

Mecanismos moleculares

y manejo clínico de la tuberculosis resistente a fármacos: ¿Un enemigo invencible?

Molecular mechanisms and clinical management of drug-resistant tuberculosis: an invincible enemy?

Keyla María Vera Ramírez, MD^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-7408-3625>, Maryuri Jessenia Dávila Morocho, MD¹ <https://orcid.org/0000-0002-8867-6827>, Iván Marcelo Gusqui Gusqui, MD¹ <https://orcid.org/0000-0001-7676-1752>, Kimberly Ivanova Anguisaca Castillo, MD² <https://orcid.org/0000-0003-2891-2514>, Mayra Alexandra López Lalangui, MD¹ <https://orcid.org/0000-0002-9019-5248>, Vanessa Alexandra Guartizaca Durán, MD¹ <https://orcid.org/0000-0001-8368-7474>, Alex Patricio Morales Carrasco, MD^{3,4} <https://orcid.org/0000-0002-7991-0685>

¹Médico General. Ministerio de Salud Pública. Hospital Básico Huaquillas. República del Ecuador.

²Médico General. Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social. Centro de Salud B Huaquillas. República del Ecuador.

³Médico General. Universidad Técnica de Ambato. República del Ecuador.

⁴Maestrante en Dirección y Gestión Sanitaria. Universidad Internacional de la Rioja.

*Autor de correspondencia: Keyla María Vera Ramírez, Médico General. Ministerio de Salud Pública. Hospital Básico Huaquillas. República del Ecuador. Teléfono: 0984035518 Correo electrónico: k3ylita_917@hotmail.com

Resumen

La Tuberculosis resistente a fármacos es un problema de salud pública mundial y es uno de los principales obstáculos para alcanzar los objetivos de control planteados a nivel global, ocasionando peores resultados clínicos como menor tasa de curación y mayor mortalidad. Ésta puede clasificarse en: TBC-multidrogaresistente, cuando es resistente a isoniazida y rifampicina, los principales fármacos de primera línea que son utilizados en los regímenes terapéuticos; y TBC-extensivamente resistente, la cual presenta además resistencia a las fluoroquinolonas y a los fármacos inyectables. En la actualidad, se conocen los mecanismos moleculares detrás de esta resistencia farmacológica, siendo causadas por polimorfismos de un solo nucleótido, multinucleótidos, inserciones o deleciones (indels) y reordenamiento de genes cromosómicos de enzimas activadoras de prodrogas, proteínas diana de los fármacos o bombas de eflujo, lo que ha permitido la entrada de nuevas estrategias de manejo terapéutico. Si bien el diagnóstico inicialmente se basaba en determinar la susceptibilidad fenotípica por medio del cultivo, sus resultados son tardíos y retrasan el tratamiento adecuado, por esta razón se han implementado las pruebas moleculares que permiten realizar el diagnóstico en horas, así como determinar la susceptibilidad farmacológica en cuestión de horas para rifampicina o días para los demás fármacos, lo que permite iniciar una estrategia terapéutica óptima. Por otro lado, nuevas drogas ya están en fases clínicas y otros fármacos aprobados para otras patologías han sido replanteados para ser utilizados con la tuberculosis. Todos estos pasos se están llevando a cabo para dar frente a este viejo y aparente invencible enemigo, por lo que en los próximos años se conocerán sus implicaciones clínicas y epidemiológicas.

Palabras clave: tuberculosis, resistencia, drogas, genómica, esquema terapéutico.

Abstract

Drug-resistant tuberculosis is a global public health problem and is one of the main obstacles to reach the control objectives set worldwide, causing worse clinical results such as a lower cure rate and higher mortality. This can be classified as: multidrug-resistant TBC when it is resistant to isoniazid and rifampicin, the main first-line drugs that are used in therapeutic regimens; and extensively resistant TBC, which also has resistance to fluoroquinolones and injectable drugs. Currently, the molecular mechanisms behind this pharmacological resistance are known, being caused by polymorphisms of a single nucleotide, multinucleotides, insertions or deletions (indels) and rearrangement of chromosomal genes of prodrug activating enzymes, target proteins of drugs or pumps efflux, which has allowed the entry of new management strategies. Although the diagnosis initially was based on determining the phenotypic susceptibility by culture, its results are late and delay the adequate treatment, for this reason the molecular tests have been implemented that allow to make the diagnosis in hours, as well as to determine the pharmacological susceptibility in hours for Rifampicine or days for the other drugs, which allows to initiate an optimal therapeutic strategy. On the other hand, new drugs are already in clinical phases and other drugs approved for other pathologies have been repurposed to be used with tuberculosis. All these steps are being carried out to confront this old and apparent invincible enemy, so in the next few years its clinical and epidemiological implications will be known.

Keywords: tuberculosis, resistance, drugs, genomic, therapeutical scheme.

La tuberculosis (TBC) es una enfermedad infectocontagiosa de interés para la salud pública a nivel mundial, ocasionada por bacterias del género *Mycobacterium*, la cual se expresa clínicamente en enfermedades pulmonares y diseminadas¹. A pesar de contar con medidas de prevención, control y regímenes de tratamiento estandarizados, su tasa de morbilidad sigue siendo considerablemente elevada, estimándose 1,3 millones de fallecimientos en el año 2017 en pacientes HIV-negativos; añadiéndose 300 mil muertes en pacientes seropositivos, lo cual consagra a esta enfermedad como la principal causa de mortalidad de causa infecciosa a nivel mundial. A su vez, se estima que 10 millones de personas padecieron la TBC en ese año, siendo más frecuente en adultos y geográficamente los casos se concentran en India, China, Indonesia, Filipinas, Pakistán, Nigeria, Bangladesh y Suráfrica, países que lideran la lista de morbilidad de esta enfermedad².

Múltiples causas están detrás de este fenómeno, pero uno de los de mayor relevancia en los últimos años es el aumento de cepas resistentes al tratamiento, reconocida como una de las principales amenazas para evitar el cumplimiento de los objetivos en el control de la TBC a nivel mundial para el año 2020 (tasa de incidencia de 4-5 casos por 100 mil habitantes por año y 10% de mortalidad)². La resistencia farmacológica de cepas de *M. tuberculosis* (MTB) generalmente es causada por mutaciones genéticas y puede clasificarse en TBC-multidrogorresistente (TBC-MDR), tuberculosis extensamente resistente (TBC-ER) e incluso se ha planteado un estadio pre-extensamente resistente (TBC Pre-ER), los cuales son determinados por el tipo de fármaco para el cual la cepa presenta resistencia, siendo importantes para evaluar la conducta terapéutica a seguir^{3,4}.

Se estima que globalmente más de 550 mil pacientes con TBC desarrollan resistencia a la rifampicina (RIF), que es el fármaco de primera línea con mayor eficacia contra la enfermedad y el 82% de estos presentan TBC-MDR. Los principales casos de resistencia se han encontrado en India (24%), China (13%) y Rusia (10%), constituyendo el 47% de los casos globalmente². Este aumento en la incidencia de resistencia farmacológica, especialmente entre los años 2008 y 2013, amerita la aplicación de una terapéutica diferente a la convencional con nuevos fármacos menos potentes, con mayores efectos secundarios y esquemas de mayor duración, así como pruebas de sensibilidad a medicamentos antituberculosos que representan un mayor gasto económico².

Las limitaciones actuales en el diagnóstico y tratamiento de la TBC resistente a fármacos convierten a esta enfermedad en un enemigo que parece ser invencible con tasas de curación exitosa aproximadamente del 55% para TBC-MDR y 30% para TBC-ER⁵; no obstante, numerosos hallazgos y avances se han realizado sobre los mecanismos que generan resistencia farmacológica en las cepas de MTB, lo que ha permitido plantear nuevas estrategias diagnósticas como las pruebas moleculares, que permiten la detección rápida del ADN de la cepa bacteriana y las mutaciones relacionadas

a la resistencia farmacológica. De esta manera, se puede iniciar un tratamiento temprano en base a las pruebas de susceptibilidad farmacológica que mejorarán los resultados de los pacientes. Por otro lado, muchos fármacos nuevos y replanteados se están evaluando en fases experimentales y clínicas, y aunque falta evidencia para demostrar su eficacia, es uno de los principales pasos para dar frente a este viejo y aparentemente invencible enemigo. Por esta razón, esta revisión describirá los mecanismos de resistencia farmacológica, así como las actuales estrategias diagnósticas y terapéuticas detrás de la TBC resistente a fármacos.

Tuberculosis resistente a fármacos: conceptos básicos de la enfermedad

La definición de la resistencia a fármacos en la TBC puede verse según diferentes perspectivas, tomando en cuenta el antecedente farmacológico del paciente (resistencia en pacientes nuevos o resistencia en pacientes previamente tratados) o según el nivel de resistencia del fármaco utilizado (monorresistente y polirresistente). Según los antecedentes farmacológicos, se define la resistencia en pacientes nuevos como aquellos casos donde durante estudios microbiológicos se aísla una cepa de MTB resistente al tratamiento cuya patología ha sido tratada durante menos de un mes o que no ha iniciado tratamiento farmacológico. Asimismo, se define a la resistencia en pacientes previamente tratados en aquellos donde se aísla una cepa de MTB resistente a fármacos antituberculosos que han recibido tratamiento farmacológico, al menos durante un mes, excluyendo la quimioprofilaxis^{6,7}.

Por su parte, la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece una clasificación según el nivel de disminución de la eficacia a los fármacos antituberculosos en: 1) Monorresistente: como aquellos pacientes donde se aíslan cepas de MTB resistentes a 1 fármaco de primera línea; y 2) Polirresistente: cuando aíslan cepas de MTB resistentes a más de un fármaco de primera línea, que no sean la isoniazida (INH) o RIF a la vez⁸. Los fármacos antituberculosis pueden ser clasificados en 5 grupos^{9,10}:

1. Grupo 1: los tratamientos orales de primera línea donde se incluyen INH, RIF, etambutol (EMB) y pirazinamida (PZA), aunque se puede añadir la rifabutina cuando se administra concomitantemente terapia antirretroviral.
2. Grupo 2: fármacos inyectables: kanamicina, amikacina, capreomicina, estreptomina.
3. Grupo 3 o FQ: entre estas la moxifloxacina, levofloxacina, ofloxacina, gatifloxacina.
4. Grupo 4: los bacteriostáticos orales de segunda línea: etionamida, protionamida, cicloserina, terizidona, ácido para-aminosalicílico.
5. Grupo 5: agentes con eficacia no demostrada claramente: clofazimina, linezolid, amoxicilina/ ácido clavulánico, tioacetazona, carbapenémicos (imipenem/cilastatina, meropenem/ácido clavulánico), INH a altas dosis, claritromicina, bedaquilina y delamanida.

Como se ha comentado previamente, la resistencia a la TBC también puede clasificarse, según la resistencia al grupo farmacológico, en “TBC-MDR”, donde la eficacia a INH y RIF se ve disminuida; a su vez la “TBC-ER”, donde además de existir disminución de la eficacia a estos dos fármacos de primera línea, presenta resistencia tanto a uno de los 3 fármacos inyectables de segunda línea (capreomicina, kanamicina y amikacina), como a las fluoroquinolonas (FQ) o grupo 3. Mientras que, la TBC-PreER es un estadio en el cual la eficacia a INH-RIF se ve disminuida, pero posee conjuntamente resistencia a FQ o a alguno de los fármacos inyectables. No obstante, esta última categoría no es una clasificación avalada por la OMS y es necesario investigar mediante estudios prospectivos las verdaderas implicaciones clínicas en los pacientes que son identificados con este estadio⁴. Por último, se han observado casos de TBC resistente a todos los fármacos de primera y segunda línea, además de las FQ y a algunos fármacos del grupo 5, obteniendo peores resultados clínicos con alta mortalidad, pero su clasificación en la actualidad no son totalmente aceptadas⁹.

Epidemiología de la tuberculosis resistente a fármacos: enfoque en Latinoamérica

Según el “Reporte de Tuberculosis” de la OMS, el 3,5% de los nuevos casos de TBC y el 18% de los previamente tratados padece de TBC-MDR, y de estos el 8,5% presenta TBC-ER. Más de 160 mil casos de resistencia farmacológica fueron notificados en el año 2017 (lo que representa apenas el 25% de las cifras estimadas por esta organización), siendo mayor al año anterior. Asimismo, las tendencias evidenciadas en países con estudios de seguimiento para resistencia farmacológica a las drogas antituberculosas demuestran un aumento de la proporción de los casos de TBC-MDR².

La TBC es una enfermedad de importante variabilidad y se estima que ésta se deba a los diversos genotipos de las cepas bacterianas que incluso se asocian a brotes en regiones geográficas específicas. Por ejemplo, la cepa Beijing, descrita en China en los años 90, presenta mutaciones en los genes *rpoB*, *rpsL*, *katG* y *embB* que la caracterizan por la resistencia a la RIF, INH, EMB y estreptomina¹¹. Este genotipo es responsable de brotes en pacientes HIV-positivos transmitidos de forma nosocomial, además de ser hipervirulento, por esta razón su diseminación a nivel global constituye un importante problema de salud pública^{12,13}. Otras cepas encontradas a nivel mundial son la Haarlem, CAS (centroasiático), EAI (indio-africano del este), T1 y LAM (latinoamericana-mediterránea)¹⁴. Estas cepas son clasificadas según patrones de polimorfismos en la región DR (*direct repeat*, por sus siglas en inglés) del cromosoma a través de una técnica denominada “*spoligotyping*”, por lo tanto se agrupan en clúster y permiten el estudio epidemiológico de la dinámica de transmisión poblacional a nivel mundial¹⁵.

En Latinoamérica, en consonancia con los objetivos planteados por la OMS, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) inició un “*plan de acción para la prevención y control de Tuberculosis*” en el que se traza como objetivo reducir la mortalidad de esta enfermedad en la región de las Américas un 24% este año 2019, en comparación al 2014. En esta

región, se han alcanzado los objetivos de reducción de prevalencia, incidencia y nuevos diagnósticos; sin embargo, según las estimaciones de estas organizaciones, para el 2013 existió un total de 6900 casos de resistencia farmacológica constituyendo uno de los principales problemas para la prevención y control en la región¹⁶. Por esta razón, en conjunto con otras sociedades internacionales, se planteó una hoja de ruta con todas las políticas y estrategias que deben seguirse, donde se prioriza la optimización de la prevención y manejo de la TBC-MDR¹⁷.

Según datos de la OPS, de los 6900 casos estimados de TBC-MDR, solo fueron notificados 3765 casos, de los cuales 3589 (95%) estaban en tratamiento, siendo los principales países que reportaron estas cifras: Perú, Brasil, México y Haití. En cuanto al tratamiento, la tasa de éxito fue del 57%, mientras que 25% fueron perdidos en el seguimiento, 8% murieron a causa de la enfermedad, 5% no son evaluados y 5% fracasaron. Por otro lado, se notificaron 117 pacientes con TBC-ER, de los cuales 68 iniciaron régimen terapéutico, donde menos del 30% fueron satisfactorios y 28% fallecieron¹⁸.

Brasil es uno de los principales países en Latinoamérica y a nivel mundial en investigación sobre tuberculosis y, a pesar de tomar medidas para disminuir la resistencia farmacológica, la incidencia de estos casos aumentó desde 122 casos (0,2%) en 2003 a 680 casos en 2014 (1,1%)¹⁹. Sin embargo, en estados como Sao Paulo, entre 2004 a 2012, se observó una disminución de la mortalidad por esta enfermedad de 30% a 8%, con un aumento en las tasas de curación de 53% a 68%. El principal patrón de resistencia farmacológica fue RIF-INH, por otro lado, el principal régimen terapéutico fue la combinación de 5 fármacos (aminoglicósidos + FQ + EMB + PZA + terizidona). La conversión del cultivo se alcanzó a los 6 meses en el 72% de los casos y solo 2 pacientes no presentaron conversión del cultivo, investigándose y confirmando como TBC-ER²⁰.

Por su parte, en México también se han realizado estudios moleculares para caracterizar la resistencia farmacológica de la región, por ejemplo, Juárez-Eusebio reportó el crecimiento de casos de TBC-MDR en los estados de Nuevo León, Tamaulipas, Guerrero, Veracruz y Baja California, a pesar de que hay evidencia limitada sobre los genotipos y polimorfismos responsables de la resistencia farmacológica. Por esta razón, realizó un estudio en los estados de Veracruz y Baja California, donde se encuentra el 80% de los casos de TBC-MDR del país, en 54 aislamientos positivos para MTB, evidenciando un total de 10 polimorfismos del gen *rpoB* en el 50% de las muestras y 22% presentaron mutaciones en el gen *katG*, que confiere resistencia a la RIF e INH respectivamente. También se reportaron polimorfismos en el gen *rrs* (13%), *gyrA* (85%), *eis* (4%) y *tlyA* (2%). En relación al linaje genotípico, el más frecuente fue el S (11%), seguido de Haarlem (9%), Ghana (9%) y LAM (7%), lo que demuestra una importante variabilidad genética en la región que debe ser considerada por los equipo de vigilancia epidemiológica²¹.

Por otro lado, en Perú, que es el principal país en casos de TBC de la región, se estudiaron los linajes en 142 aislamientos

tos de TBC-ER, donde encontraron que el más frecuente fue el Haarlem (43%), seguido del linaje T (27%), LAM (16%) y Beijing (9%), siendo diferente a otros estudios en la región que incluyen tanto cepas sensibles y resistentes, donde el genotipo LAM es el más frecuente. A su vez, describen que la alta variabilidad en las cepas encontradas puede sugerir que la transmisión desde otras regiones puede explicar la alta incidencia de estos casos de TBC²².

Finalmente, Bolivia es otro país con una importante morbilidad de TBC dentro del *top ten* latinoamericano, por esta razón se realizó un estudio en 7 de los nueve departamentos con el objetivo de esclarecer la relación entre el genotipo y la resistencia farmacológica, donde encontraron como familias más frecuentes la Haarlem (39%) y LAM (26%), por otro lado, se han reportado estos genotipos en bolivianos migrantes que llegaron a Europa, lo que sugiere un posible mecanismo de diseminación²³. En este sentido, en Buenos Aires-Argentina se encontró también una asociación entre la resistencia elevada a INH y las mutaciones en *katG*, además el linaje Haarlem fue el más propenso a volverse multiresistente²⁴; mientras que en Colombia se reportó que entre el año 1999-2012 la familia Beijing se asoció a resistencia farmacológica²⁵. Los reportes epidemiológicos y de estudios moleculares son cada vez más frecuentes en Latinoamérica, pero es necesaria mayor investigación para constatar la relación entre los genotipos, la resistencia farmacológica y su relevancia en el tratamiento.

Tuberculosis resistente a fármacos: ¿Por qué sucede?

La TBC es una enfermedad infecciosa causada por los organismos pertenecientes al “Complejo *Mycobacterium tuberculosis*” (CMT), que se transmite por vía respiratoria a través de las gotitas de flügge, la cual se asienta en el tejido pulmonar iniciando la infección. El *M. tuberculosis* es el patógeno obligatorio de mayor relevancia en este complejo, que tiene la capacidad de persistir en estado latente por años en el organismo debido a los diversos mecanismos de evasión que posee para atenuar y disminuir la respuesta inmune. Algunos de estos mecanismos son la alteración del ambiente e interacción fagosoma-lisosoma en los macrófagos de los receptores de reconocimiento de patrones asociados a patógenos, la manipulación de la presentación antigénica o la respuesta de las células T, pero al ser susceptible a fármacos se evidencian buenos resultados en el tratamiento²⁶.

Para entender los mecanismos asociados a resistencia farmacológica hay que diferenciar el término resistencia de la bacteria, como la capacidad heredable de resistir los efectos de un fármaco al que su progenitor era susceptible, de otros conceptos relacionados como tolerancia, en donde el organismo resiste de forma transitoria concentraciones de antibióticos bacteriostáticos que serían letales debido a un crecimiento lento o a la entrada en fase de latencia. Esto impide al antibiótico realizar su acción, o persistencia, en donde una subpoblación de las bacterias persiste luego de la acción del antibiótico, lo que describe heterogeneidad bacteriana. Estas diferencias señalan entonces que la resistencia farmacológica de MTB se origina por diversas mutaciones heredadas que afectan la efectividad del tratamiento²⁷.

La resistencia farmacológica de MTB es un ejemplo de selección positiva a pesar de que esta micobacteria presenta una baja tasa de mutación, ausencia de transferencia horizontal de genes y plásmidos de resistencia. Las evidencias demuestran que la resistencia a fármacos por parte de MTB se origina de forma rápida debido a otros determinantes como el tamaño del gen diana de la mutación, por lo tanto a mayor tamaño mayor probabilidad de mutación, además del tamaño de la población bacteriana, que son altas en pacientes con falla al tratamiento²⁸.

Los principales mecanismos de mutación de MTB ocurren *de novo*; los cuáles se deben a polimorfismo de un solo nucleótido, polimorfismos multinucleótidos, inserciones o deleciones (indels) o reordenamientos de genes cromosómicos^{5,29}. Ésta puede originarse por mala adherencia al tratamiento, inadecuada supervisión, factores socioeconómicos que impidan la accesibilidad a centros de salud, malabsorción, baja concentración de la droga por variaciones farmacocinéticas en los pacientes o inmunodeficiencia, entre otros, que disminuyen la concentración del fármaco en el microambiente bacteriano⁹, aumentando en primer lugar la probabilidad de cambios epigenéticos como la inducción de bombas de eflujo, las cuales son mecanismos de bajo nivel de resistencia farmacológica, pero que permiten la replicación de la bacteria por semanas, con mayor riesgo de mutaciones espontáneas en genes diana asociados a multiresistencia^{30,31}.

Los principales genes dianas asociados a mutaciones son *rpoB* para RIF, *pncA* que confiere resistencia a la PZA, *gyrA* y *gyrB* que genera resistencia cruzada a las FQ o *katG*, *inhA* para INH o *embB* para EMB^{32,33}. En la **Tabla 1** se muestran las principales dianas de resistencia farmacológica de los fármacos anti-tuberculosis, evidenciando que los genes afectados son responsables de la expresión de enzimas activadores de prodrogas y proteínas de unión del fármaco, pero además se han reportado otros mecanismos como las bombas de eflujo, enzimas inactivadoras del fármaco y defectos en la reparación del ADN que aumenta la tasa de mutación de la micobacteria^{5,5,34-37}. En relación a la bedaquilina y delamanida, los últimos fármacos en ser aprobados e incluidos en el régimen terapéutico de la TBC, se han reportado mutaciones en genes como *rv0678*, *atpE* y *pepQ* o *fdg1* y *fbiC* respectivamente, pero debido a su reciente entrada, su relevancia clínica debe ser determinada³⁵.

Tabla 1. Principales fármacos anti-tuberculosis y genes dianas de resistencia farmacológica.

FÁRMACO	GEN DIANA	PRODUCTO CODIFICANTE
Fármacos de primera línea		
RIF	<i>rpoB</i>	Sub unidad β de la ARN polimerasa
INH	<i>katG, inhA</i>	Catalasa peroxidasa, Enoil ACP reductasa-NADPH dependiente
EMB	<i>embB, ubiA</i>	Arabinosil transferasa, Decaprenil-Fosfato-5-fosforribosiltransferasa sintasa
PZA	<i>pncA, rspA, panD</i>	Pirazinamidasa, Proteína ribosomal 1, aspartato -1-descarboxilasa
Fármacos de segunda línea		
Amikacina/ Kanamicina	<i>rrs, eis</i>	ARN ribosomal 16S, N-Acetil-transferasa
Estreptomina	<i>rpsL, gidb, rrs</i>	Proteína ribosomal S12, ARNr 16S metiltransferasa, ARN ribosomal 16S
Capreomicina	<i>rrs, tlyA</i>	ARN ribosomal 16S, citidina-2'-O-Metil transferasa
FQ*	<i>gyrA, gyrB</i>	Subunidad A y B de las girasas del ADN
Clofazimina	<i>Rv0678</i>	Bomba de flujo
Linezolid	<i>rrl, rplC</i>	ARN ribosomal 23S, Proteína 50S ribosómica L3
Cicloserina / Terizidona	<i>alr, ddl, cycA</i>	D-Alanina racemasa, D-alanina-D-alanina ligasa, transportador serina/alanina/glicina
Etionamida/ Protionamida	<i>ethA, ethR, inhA</i>	Mono-oxigenasa, represor de la transcripción del <i>ethA</i> , Enoil ACP reductasa-NADPH dependiente
Ácido para-aminosalicílico	<i>thyA, folC, dfrA, ribD</i>	Timidilato sintasa A, dihidrofolato sintasa, dihidrofolato reductasa, Análogo de la dihidrofolato reductasa

Adaptado de Koch y cols. (5), Alcaide y cols. (7), Nguyen (36) y Smith y cols. (37).

EMB: etambutol; FQ: fluoroquinolonas; INH: isoniazida; PZA: pirazinamida; RIF: rifampicina.

*Levofloxacina, Moxifloxacina, Gatifloxacina.

Se ha descrito que las mutaciones relacionadas a resistencia farmacológica involucran funciones biológicas importantes de la bacteria, por lo tanto, le cuestan a la bacteria una reducción de su "fitness" o resistencia de la cepa bacteriana comparado a las cepas susceptibles. No obstante, algunas mutaciones que se asocian a altos niveles de resistencia pero a bajo costo biológico (*katG S315T, rpoB S531L, rpsL K43R o gyrA D94G*) son encontradas en mayor frecuencia en los aislamientos clínicos, lo que sugiere que estas mutaciones han sido seleccionadas positivamente. Por otro lado, pueden surgir mutaciones compensatorias, las cuales tienen como finalidad atenuar los efectos de la reducción del "fitness" bacterianos producido por las mutaciones asociadas a resistencia farmacológica, por ejemplo, las mutaciones en el gen *katG* reducen la activación de la INH por disminución de la actividad de la catalasa peroxidasa, pero esto conllevaría a la micobacteria a ser susceptible frente al estrés oxidativo, por lo que se propone la sobreexpresión del gen *AhpC* que

codifica una hidroxidasa que contribuye en las defensas contra el daño oxidativo en la bacteria^{29,38}.

La resistencia y transmisión de estas cepas puede ocurrir entonces en dos escenarios: a) primaria: donde se da la transmisión de una cepa resistente a un nuevo hospedador; b) adquirida o secundaria: donde se genera nuevas resistencias a otras drogas en el mismo hospedador³⁵. Se ha reportado también la importancia de la transmisión nosocomial de la TBC-MDR por parte de los trabajadores de la salud, siendo de mayor importancia en países sub-desarrollados y endémicos para la infección de VIH, que sugiere también la reinfección por cepas resistentes^{39,40}. Además, ahora se plantea también la transmisión comunitaria, donde los pacientes se contagian con cepas resistentes presentes en la comunidad, más que por adquisición de cepas sensibles que se vuelven resistentes por tratamiento inadecuado⁴¹.

Por otro lado, los estudios de secuenciación genómica completa están cobrando mayor interés a nivel mundial como herramienta para conocer los mecanismos asociados a resistencia, ya que puede identificar múltiples mutaciones en un análisis simple, pero requiere altas concentraciones de ADN de MTB. Cada vez más protocolos están siendo probados para extraer y purificar el ADN completo de la micobacteria^{42,43}. En la actualidad, existen bases de datos donde se comparten todos estos resultados, permitiendo recrear la secuencia de las cepas de MTB como la base de datos ReSeqTB⁴⁴. Coll y cols., realizaron un estudio en 6465 aislamientos de más de 30 países, evidenciando que las mutaciones más comunes fueron: polimorfismos de un solo nucleótido, indels y grandes deleciones; este estudio permitió determinar un perfil de resistencia para la identificación de cepas de TBC-MDR y la TBC-ER frente a las cepas sensibles⁴⁵.

Por otro lado, Mansol y cols realizaron una investigación con una data de más de 5000 secuenciaciones del genoma de MTB aislados globalmente, identificando la resistencia farmacológica según las regiones del mundo, a su vez, se observó que las cepas bacterianas adquieren resistencia inicialmente a la INH (*katG*) y luego a la RIF, mientras que la resistencia a los fármacos de segunda línea generalmente ocurre luego de la resistencia a los fármacos de primera línea⁴⁶. De esta manera, los estudios genómicos permiten detectar la susceptibilidad farmacológica, epidemiología molecular, transmisión e incluso determinar nuevas dianas de tratamiento y es un componente importante a considerar en la vigilancia epidemiológica de la enfermedad⁴⁷.

Factores de riesgo

Como factores asociados de mayor importancia se destacan: historia previa de TBC con uso de tratamiento corto, irregular, no supervisado y suspensión del tratamiento de primera línea⁴⁸⁻⁵¹, contacto con un paciente con TBC^{51,52}, así como la presencia de comorbilidades, en especial inmunosupresión por infección de VIH^{49,53}. También se consideran otros factores personales y sociodemográficos que inciden en menor grado como la edad (aunque varía entre las regiones), el sexo masculino, la pobreza, grado de instrucción baja, el estado civil casado, la indigencia, encarcelamiento,

alcoholismo y tabaquismo, lo que describe la necesidad de estudios regionales para poder determinar las poblaciones de riesgo^{49,50,54}.

Pruebas diagnósticas de la tuberculosis resistente a fármacos

Para realizar un adecuado manejo de la TBC-MDR, el diagnóstico, verificación y evaluación de la resistencia a fármacos antituberculosos constituye un papel fundamental para instaurar el tratamiento adecuado y disminuir las tasas de morbimortalidad. Si un paciente diagnosticado con la enfermedad inicia un esquema terapéutico, pero presenta resistencia farmacológica, hay mayor probabilidad de falla terapéutica y muerte prematura, por lo tanto una importante parte de los recursos deben ser guiados hacia diagnosticar la resistencia de manera precoz⁵⁵.

Las actuales limitaciones que deben ser superadas para darle frente a esta enfermedad son la baja capacidad para evaluar la susceptibilidad farmacológica, ya que pocos laboratorios pueden evaluar todos los fármacos, o varía la sensibilidad y reproductibilidad de algunas pruebas. Idealmente, se necesitaría una prueba de bajo costo, fácil aplicación y rápida para determinar el diagnóstico de TBC pulmonar o extrapulmonar en pacientes con o sin infección de HIV y que valora la sensibilidad a los fármacos antituberculosos de primera línea¹⁰. Además, menos de 25% de los pacientes con TBC-MDR tiene pruebas sobre susceptibilidad a fármacos de segunda línea, por lo que no se excluye de forma precoz los casos de TBC-ER, ocasionando fallas y retrasos en el tratamiento adecuado¹⁰. En los siguientes apartados se comentarán los métodos convencionales y las nuevas pruebas diagnósticas que han surgido con el objetivo de combatir esta enfermedad.

Métodos convencionales de detección y pruebas moleculares rápidas para detectar la resistencia farmacológica

El diagnóstico de TBC se realiza en base a patrones clínicos-epidemiológicos, radiológicos y microbiológicos, no obstante el “diagnóstico” de resistencia farmacológica requiere otro enfoque paralelo del manejo clínico de la enfermedad susceptible a fármacos. Por ejemplo, en el patrón clínico-epidemiológico, además de encontrar la sintomatología clínica respiratoria y constitucional de la enfermedad, el empeoramiento de los signos y síntomas del paciente a pesar de recibir tratamiento farmacológico puede sugerir fallo de tratamiento por resistencia farmacológica. En este sentido, es de vital importancia hacer énfasis en los antecedentes farmacológicos con antituberculosos del paciente debido a que se ha evidenciado que el uso previo de un fármaco como monoterapia durante más de un mes representa el principal predictor de resistencia a dicho fármaco. De igual forma, se debe investigar acerca de contactos con casos de TBC-MDR, así como el lugar donde habita el paciente ya que puede existir una alta prevalencia de fármacorresistencia, que expliquen el comportamiento de la patología⁵⁶.

En cuanto a patrones radiológicos, ya están ampliamente establecidos los signos que pueden observarse en la evolución clínica de la enfermedad, desde la fase primaria, posprimaria

y avanzada, pero poca información sugiere resistencia farmacológica *per se*. Es así como el tamaño (≥ 30 mm) y el número de cavidades (≥ 3) se pueden relacionar a multirresistencia, mientras que la bilateralidad y la afectación pleural puede hacer referencia a progresión de la enfermedad y posiblemente resistencia al tratamiento. Sin embargo, estos signos por sí solos no son confiables al ser marcadores del proceso patológico y no de resistencia farmacológica^{57,58}.

Lo anterior expuesto refleja por qué el criterio microbiológico continúa siendo el de mayor relevancia para el diagnóstico de TBC, principalmente a través de técnicas de baciloscopia (observación microscópica del bacilo en muestras clínicas) y cultivos en medios sólidos. En el caso de las técnicas para evaluar la resistencia farmacológica, se puede realizar un estudio fenotípico por medio del aislamiento de la bacteria con los cultivos y el uso de los fármacos o a través de métodos moleculares⁵⁹. Los cultivos en medios líquidos tienen ventajas sobre los medios sólidos al presentar mayor sensibilidad y menor tiempo requerido para la detección del crecimiento de la micobacteria, sin embargo, el tiempo de detección varía entre 2-4 semanas, por lo que también se han realizado test basados en la amplificación de ácidos nucleicos por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o la amplificación isotérmica de ácidos nucleicos. Las desventajas de estas técnicas son la falta de sensibilidad que no iguala al cultivo, la variabilidad en los resultados y son medianamente complejas, por lo que la OMS ante la falta de evidencia no recomienda su uso como reemplazo del cultivo⁶⁰.

No obstante, la entrada al escenario clínico de las nuevas pruebas moleculares, tanto para el diagnóstico de la enfermedad como la susceptibilidad farmacológica al detectar mutaciones genéticas, ha generado cambios de paradigmas en el manejo clínico de la enfermedad por su rapidez y facilidad, por lo cual, la OMS en el año 2010 avaló el test Gene Xpert[®] MTB/RIF para diagnosticar TBC-MDR en adultos y niños⁶¹. Posteriormente, se han desarrollado otras pruebas para detectar resistencia a fármacos de segunda línea, pero a pesar de estar disponibles varios test, los resultados deben ser interpretados con cautela y por personal experimentado⁵⁸.

Gene Xpert MTB/RIF

El Gene Xpert[®] MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale Ca., USA) es una PCR a tiempo real que destaca por la posibilidad de realizar el diagnóstico de TBC en muestras de esputo en menos de 2 horas, mediante la identificación de su ADN y mutaciones en el gen *rpoB*, determinando la resistencia a la RIF, lo que permite iniciar de forma rápida el tratamiento antituberculoso con los fármacos adecuados. Sus ventajas son evidentes, por la facilidad para manejar el equipo puede ser realizado por personal de laboratorio con un entrenamiento básico ya que es un ensayo molecular de amplificación genética automatizado e integrado en sus fases de extracción, amplificación y detección a través de un sistema de cartuchos de un solo uso que son insertados en el equipo, mientras que se utilizan 5 sondas tipo “molecular beacon” que, al estar presente una mutación, no se unen con su secuencia diana y dejan de emitir fluorescencia, identificando la resistencia farmacológica^{62,63}.

Desde su desarrollo, se han realizado 4 generaciones del test (software y combinación de los cartuchos), realizando estudios que demuestran una especificidad global de todas las generaciones del 99% y sensibilidad del 89% para el diagnóstico de TBC y 98% de especificidad y sensibilidad del 95% para la identificación de resistencia a la RIF, de los cuales el 95% de los casos son resistentes a INH, por lo que aquellos casos donde se diagnostique resistencia a la RIF mediante esta técnica debe considerarse como TBC-MDR⁶⁴. Por otro lado, el límite de detección es de 130 UFC/mL⁶⁵, por estas razones, la OMS recomienda en la actualidad esta técnica como la primera elección (si está disponible) para el diagnóstico de TBC-MDR o asociada a infección por HIV⁶¹.

Diversos estudios a nivel mundial han constatado el uso de esta técnica para el diagnóstico de resistencia farmacológica en muestras pulmonares o extrapulmonares como líquido cefalorraquídeo, aspirado gástrico, urinario, peritoneal o ganglios linfáticos en poblaciones de alta o baja incidencia de la enfermedad^{63,66-71}. La evidencia clínica actual de relevancia que constata el uso de esta técnica en Latinoamérica se muestra en la **Tabla 2**⁷²⁻⁷⁷. La entrada de esta prueba molecular en esta región fue constatada por la OPS en el año 2014, donde 12 países de la región ya habían implementado este test en sus sistemas de salud y el resto había realizado una orden de compra para introducirlo en estos últimos años⁷⁸.

Tabla 2. Evidencia clínica-epidemiológica del uso del Xpert® MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis multirresistente en Latinoamérica.

Autor (referencia)	Año	País	Metodología y principales resultados
Boehme y cols. (72)	2010	Perú	Estudio de validez diagnóstica que incluyó a 1730 pacientes de varios países, incluyendo 341 pacientes con sospecha de TBC en Perú, en donde se comparó los indicadores diagnósticos entre las pruebas moleculares (Gene Xpert® MTB/RIF) y el cultivo. La sensibilidad y especificidad fue de 99% y 100% de especificidad respectivamente para el diagnóstico de la enfermedad. Por otro lado, para la detección de resistencia a la RIF, la sensibilidad y especificidad de la prueba molecular fue del 100%, respectivamente.
Carriquiry y cols. (73)	2012	Perú	Estudio epidemiológico que incluyó 131 pacientes HIV-positivos con sospecha de TBC, comparando el uso de las pruebas moleculares (Gene Xpert® MTB/RIF) con las convencionales (cultivo). La sensibilidad y especificidad para la detección de TBC fue de 97,8% y 97,7%, respectivamente, mientras que para la resistencia farmacológica a la RIF fue de 100% y 91%.
Durovni y cols. (74)	2014	Brasil	Ensayo clínico aleatorizado que incluyó a más de 12 mil muestras sospechosas de tuberculosis a quien se les indicó la realización del Gene Xpert® MTB/RIF. La aplicación de esta prueba aumentó la tasa de confirmación bacteriológica en comparación en comparación a la baciloscopia, además permitió detectar la resistencia a la RIF (3,3% en los casos nuevos y 7,4% en los previamente tratados).
Barriga-Angulo y cols. (75)	2014	México	Estudio de validez diagnóstica de las pruebas moleculares que evaluó a 693 muestras de tejido extrapulmonar (83,2% de líquido cefalorraquídeo) de pacientes con sospecha de TBC y se comparó con los métodos convencionales, encontrando que la sensibilidad y la especificidad para el Gene Xpert® MTB/RIF fue de 73% y 100%, respectivamente. Ningún paciente en ambas pruebas presentó resistencia a la RIF. El tiempo de desarrollo de la prueba fue 2,5 horas.
Atehortúa y cols. (76)	2015	Colombia	Estudio de validez diagnóstica llevado a cabo en 103 pacientes con sospecha de TBC, comparando la prueba molecular Gene Xpert® MTB/RIF con el cultivo. La sensibilidad y especificidad fue de 91% y 92%, respectivamente. Estos indicadores variaron entre las muestras positivas para la baciloscopia (94% y 100%) y las negativas (87% y 91%). 8,6% de estos casos fueron resistentes a la RIF y se encontró un grado de concordancia perfecto entre las pruebas para determinar multirresistencia ($\kappa=1$).
Pardón y cols. (77)	2017	Ecuador	Estudio epidemiológico realizado en 5649 pacientes con sospecha de TBC pulmonar, de los cuáles 200 fueron positivos según la prueba molecular (Gene Xpert® MTB/RIF), y de estos el 10% presentó resistencia farmacológica. Según estos datos, las tendencias anuales tanto de prevalencia de casos como de resistencia disminuyeron hasta mediados de 2015. El principal factor de riesgo encontrado fue la interrupción en el suplemento de los fármacos (95%).

HIV: virus de inmunodeficiencia humana; RIF: rifampicina; TBC: tuberculosis.

Sin embargo, dentro de sus desventajas hay que considerar que solo evalúa las mutaciones en la región RRDR del gen *rpoB*, es por esta razón que la resistencia farmacológica a la RIF que se genere por mutaciones fuera de este sitio, aunque menos frecuentes, no podrán ser determinadas por esta prueba⁷⁹. A su vez, esta técnica es relativamente

cara, requiere calibración periódica y un flujo constante de energía lo que puede complicar su uso en poblaciones de bajos recursos, es por esta razón, que se están desarrollando nuevas herramientas, entre estas, la compañía Cepheid ha sacado al mercado dos nuevos modelos: el Gene Xpert® Omni (portátil con batería) y Gene Xpert® Ultra (con mayor

sensibilidad que el convencional y un límite de detección de 10 UFC/ml)^{63,65}.

GenoType® MTBDRplus

La prueba molecular GenoType® MTBDRplus (Hain Lifescience, Nehren, Alemania) es un ensayo de prueba en línea (LPA; por sus siglas en inglés “Line Probe Assay”), permite identificar mutaciones en el gen *rpoB* para RIF y el gen *katG* (alta resistencia) e *inhA* (baja resistencia) para INH, determinando la susceptibilidad a ambos fármacos. Esta prueba es útil para diagnosticar la TBC-MDR a partir de muestras de esputo y cultivo en 48-72 horas con una alta sensibilidad (>91%) y especificidad (>97%) para la detección de resistencia a RIF y >89% de sensibilidad y 96% de especificidad para la resistencia a INH⁸⁰. Su funcionamiento se basa en la reacción de amplificación e hibridación inversa del ADN de la micobacteria en tiras reactivas basadas en nitrocelulosa, donde están contenidas en bandas las sondas vinculadas a las secuencias wild-type o mutadas de los genes diana (*rpoB*, *katG* e *inhA*)⁷.

En el año 2008, la OMS avaló el uso del GenoType® MTBDRplus para la detección de las micobacterias relacionadas al CMT y posteriormente, se desarrolló la versión 2 de esta prueba con una mejora en el procesamiento de la muestra que aumentó la sensibilidad de la prueba y entró en el mercado el NTM+MDRTB (Nipro, Tokio, Japón) que permite además diferenciar genotipos de otras micobacterias no pertenecientes al CMT⁸⁰. Estas 2 pruebas comerciales han

demostrado equivalencia con la versión 1 del GenoType® MTBDRplus⁸¹. En el año 2016, la OMS actualizó las políticas para el uso de estas pruebas moleculares en base a estos nuevos resultados y recomiendan el uso de cualquier método LPA comercial para determinar la sensibilidad farmacológica a RIF-INH por encima del cultivo, en pacientes con baciloscopia o cultivo positivo (no recomendado como prueba directa o en pacientes con baciloscopia negativa)⁸⁰.

Las investigaciones llevadas a cabo en diversas poblaciones han constatado el uso de este test como prueba complementaria para la detección temprana de TBC-MDR y TBC-ER, especialmente en escenarios de elevada incidencia⁸²⁻⁸⁵. El uso de estas técnicas en conjunto al Gene Xpert® MTB/RIF permite complementar los resultados de susceptibilidad farmacológica al validar la resistencia a la RIF y aportar información sobre la susceptibilidad INH⁸⁶. Al igual que con la técnica anterior, los estudios recientes que han evaluado su uso en Latinoamérica se presentan en la **Tabla 3**⁸⁷⁻⁹².

A diferencia del Gene Xpert® MTB/RIF, este ensayo requiere ser realizado en laboratorios equipados y con personal entrenado altamente calificado, lo que representa una desventaja para su aplicación debido a su elevado costo, además en algunas poblaciones se ha observado un importante porcentaje de falsos negativos⁹³. Así mismo, para poder llevar a cabo esta prueba se requiere una carga bacilar mayor, por lo que resulta conveniente ejecutarla en muestras con previa baciloscopia positiva⁹⁴.

Tabla 3. Evidencia clínica-epidemiológica del uso del GenoType® MTBDRplus en el diagnóstico de tuberculosis multirresistente en Latinoamérica.

Autor (referencia)	Año	País	Metodología y principales resultados
Asencios y cols. (87)	2012	Perú	Estudio de validez diagnóstica realizado en 45 cultivos positivos para MTB, aislados en pacientes nuevos diagnosticados con TBC o que previamente recibieron tratamiento, con el objetivo de comparar el cultivo o la baciloscopia con el método molecular (GenoType® MTBDRplus) para determinar susceptibilidad farmacológica. La sensibilidad y especificidad de la prueba molecular fue de 97% y 98% para determinar resistencia a la INH, asimismo, 100% y 96% para resistencia a la RIF. Por último, para el diagnóstico de TBC-MDR estos indicadores fueron de 96,9% y 96,8% respectivamente.
Imperiales y cols. (88)	2012	Argentina	Estudio epidemiológico retrospectivo que incluyó 100 muestras de TBC, los cuáles 27% fueron susceptibles a fármacos, 27% presentaron resistencia a INH, 6% a RIF, 38% eran TBC-MDR y 2% TBC-ER a través del cultivo. Por medio de la prueba molecular (GenoType® MTBDRplus), se pudo identificar 85,5% de las muestras resistentes a INH y 97,7% de las muestras resistentes a RIF. Por otro lado, se evaluó el grado de concordancia entre las mutaciones encontradas por el test molecular y la secuenciación genómica, siendo excelente (kappa= 0,99).
Ferro y cols. (89).	2013	Colombia	Estudio de validez diagnóstica llevado a cabo en 228 cepas de MTB, comparándose los indicadores diagnósticos entre el método de referencia del cultivo y la prueba molecular (GenoType® MTBDRplus). La sensibilidad y especificidad para la detección de resistencia a INH fue de 94% y 100%, respectivamente, mientras que para la resistencia a RIF fue de 95% y 97%. En el caso de TBC-MDR, la sensibilidad y especificidad fue de 92% y 97% respectivamente.
Rueda y cols. (90)	2015	Colombia	Estudio de validez diagnóstica que incluyó a 30 aislamientos con resistencia a INH y etionamida comparados con 4 aislamientos sensibles a fármacos como referencia, en los que se evaluó la prueba molecular (GenoType® MTBDRplus) y la secuenciación genómica del ADN. El grado de concordancia entre estos dos test fue perfecto (kappa= 1), exhibiendo todas mutaciones en el <i>katG</i> y 40% en el promotor del <i>inhA</i> .
Lanzas y cols. (91)	2016	Panamá	Estudio de validez diagnóstica realizado en 68 muestras con baciloscopia positiva, de las cuales 7,4% fueron TBC-MDR, 5,8% monorresistente a INH y 5,8% monorresistente a RIF. La sensibilidad y especificidad para la detección de resistencia a RIF fue de 100% respectivamente, mientras que fue de 90% y 100% para la detección de resistencia a INH, para la prueba molecular GenoType® MTBDRplus cuando fue comparado con el cultivo. Los resultados de estos indicadores diagnósticos comparados frente a la secuenciación genómica fueron similares.
Dantas y cols. (92)	2017	Brasil	Estudio de validez diagnóstico llevado a cabo en 80 muestras de CMT, los cuales fueron 20 susceptibles y 60 resistentes a fármacos, de esta manera compararon la prueba molecular (GenoType® MTBDRplus) con el cultivo, obteniendo una sensibilidad y especificidad del 93% y 100% respectivamente para la resistencia a RIF, 83% de sensibilidad y 100% de especificidad para la resistencia a INH y 83% de sensibilidad y 100% especificidad para el diagnóstico de TBC-MDR.

CMT: complejo Mycobacterium tuberculosis; INH: isoniazida; MTB: Mycobacterium tuberculosis; RIF: rifampicina; TBC: tuberculosis; TB-ER: tuberculosis extensamente resistente; TBC-MDR: tuberculosis multidrogeresistente.

Otras pruebas moleculares

La prueba molecular Genotype[®] MTBDRs/ (Hain Lifescience, Nehren, Germany) forma parte de los test "LPA" para fármacos de segunda línea (misma tecnología al Genotype[®] MTBDRplus), cuya versión 1 permite diagnosticar la susceptibilidad farmacológica a EMB, FQ y los fármacos inyectables (a través de las mutaciones en los genes *gyrA*, *rrs*, *embB*), por lo tanto, permite el diagnóstico de TBC-ER. Posteriormente, en el 2015 se desarrolló la versión 2 del test que incluye otras mutaciones (*gyrB* para las FQ, *eis* para capreomicina). Este test se realiza de manera relativamente rápida, pudiéndose realizar el procesamiento y obtención de los resultados en un día^{95,96}. La OMS recomienda la realización de esta prueba a los pacientes con resistencia farmacológica a la RIF o TBC-MDR, en lugar del cultivo, para determinar la resistencia a FQ y los fármacos inyectables de segunda línea, independientemente del resultado de la baciloscopia⁹⁷.

El INNO-LiPA Rif.TB[®] (Innogenetics, Ghent, Bélgica) es una prueba molecular basada también en la técnica LPA que permite identificar el ADN de los miembros del CMT y paralelamente detectar mutaciones genéticas en el gen *rpoB* relacionados a la resistencia a la rifampicina, utilizadas en Reino Unido y Larvia^{98,99}. Otros tests que se están investigando son el uso de la técnica LPA para detectar resistencia a la pirazinamida (gen *pnca*) y el Xpert XDR[®] para determinar resistencia a INH, FQ y aminoglicósidos (fármacos de segunda línea), lo que permitiría el diagnóstico de TBC-ER⁶⁵. Este último se encuentra en la actualidad evaluándose en ensayos clínicos (NCT03728725).

Estudios genómicos

Gracias a la capacidad actual de la tecnología que permite la secuenciación completa del ADN en un tiempo, surge en el campo de la TBC-MDR y TBC-ER la posibilidad de comparar el genoma con bases de datos y poder determinar mutaciones genéticas y realizar asociaciones con fenotipos de resistencia, así como trazar la transmisión de cepas resistentes al detectar el orden de los cambios de los nucleótidos. Otro desafío que permite abordar los protocolos de secuenciación genómica es tratar de estudiar distintas cepas con distintos polimorfismos de un solo nucleótido para explicar la variabilidad en la resistencia farmacológica entre las cepas bacterianas con mutaciones similares¹⁰⁰. Por ello, incluir los estudios de secuenciación genómica en el manejo clínico de la enfermedad permitirá la individualización de la terapia farmacológica y mejorar los resultados de cada paciente, pero la viabilidad y el impacto de este enfoque debe ser evaluado en múltiples escenarios (alta-baja incidencia, países desarrollados o subdesarrollados)⁵⁹.

Tratamiento de la tuberculosis resistente a fármacos: ¿Qué hay de nuevo?

En los últimos años, la TBC-MDR ha ido incrementando considerablemente sus tasas de morbilidad, por lo que se ha convertido en una enfermedad difícil de tratar debido a que existe resistencia a la RIF, fármaco que se emplea principalmente dentro de sus esquemas de tratamiento por su mayor eficacia contra MTB. Este hecho ha favorecido que durante los últimos años se hayan modificado pautas en los regímenes

terapéuticos para pacientes con TBC resistente (TBC-MDR y TBC-ER) a fármacos, pero utilizando drogas más costosas, tóxicas y que requieren mayor duración¹⁰¹.

Las últimas drogas en unirse al arsenal terapéutico frente a la TBC fueron la delamanida en el 2013 (familia farmacológica: nitroimidazol; mecanismo de acción: inhibición de la síntesis de la pared celular y la respiración celular) por medio de la aprobación condicional de su comercialización en Europa¹⁰² y la bedaquilina en el año 2012 (familia farmacológica: diarilquinolina; mecanismo de acción: inhibidor de la ATP-sintasa), que recibió la aprobación condicional por la FDA¹⁰³. También se han incluido en los regímenes terapéuticos el replanteamiento de fármacos, que se refiere a drogas que se utilizaban para tratar otras enfermedades pero que en la actualidad se están utilizando frente a la TBC, entre estas, FQ, amikacina, clofazimina, linezolid y algunos beta-lactámicos (carbapenémicos y amoxicilina/ácido clavulánico)¹⁰⁴. Por otro lado, el conocimiento de los mecanismos genéticos asociados a resistencia farmacológica en TBC permitirá identificar nuevas dianas de tratamiento y mejorar los resultados en estos pacientes.

Principales recomendaciones para el manejo médico de la TBC-MDR y TBC-ER

El tratamiento de la TBC-MDR es complejo y como se ha comentado previamente, costoso, de larga duración, con mayores efectos adversos y de baja probabilidad de curación. En líneas generales, se debe iniciar con algún fármaco del grupo 1 que sea aún susceptible (PZA o EMB, deben ser considerados como adyuvantes por su limitada actividad), luego se va escalando las opciones terapéuticas con un fármaco del grupo 2 y 3. Los fármacos del grupo 4 y 5 se utilizan como complemento para un régimen de 4 fármacos a los que se les puede añadir la PZA¹⁰⁵.

Según los lineamientos planteados por la OMS, en pacientes con resistencia confirmada a la INH y sensibles a la RIF, el tratamiento debe iniciar con la combinación de RIF, EMB, PZA y levofloxacina por una duración de 6 meses, sin recomendarse la adición de estreptomina u otro fármaco inyectable. Las pruebas moleculares son recomendadas para guiar el manejo clínico en estos pacientes a través de la identificación de la susceptibilidad farmacológica. En el caso de la TBC-MDR, se requiere un tratamiento más largo (18-20 meses) y se debe iniciar con fármacos de segunda línea, clasificándose en 3 grupos según la guía de la OMS en el 2018^{6,58}:

1. El grupo A se encuentran: FQ (levofloxacina o moxifloxacina), bedaquilina y linezolid, indicándose los 3 fármacos a los que se les asocia otro de los fármacos del grupo B: clofazimina o cicloserina/terizidona. Por otro lado, si se inicia con solo dos fármacos del grupo A, se debe añadir dos del grupo B, mientras que si no se puede utilizar fármacos de estos grupos previos, se deben añadir los siguientes agentes del grupo C: EMB, delamanida, PZA, carbapenémicos, etionamida/protionamida, amikacina/estreptomina o el ácido para-aminosalicílico (Grupo C), para conformar una terapia de 4 drogas. Los casos específicos, especialmente TBC-ER¹⁰⁶, deben ser evaluados

según las pruebas de sensibilidad para iniciar un tratamiento efectivo, preferiblemente por un experto que realice una supervisión de cada caso, pero en países subdesarrollados es difícil recibir este monitoreo por lo que se requiere el uso de regímenes estandarizados^{6,58}.

Otra recomendación por la OMS es usar un régimen de tratamiento corto por 9 a 12 meses en pacientes seleccionados como susceptibles o con gran probabilidad de susceptibilidad para FQ o aminoglicósidos, en quienes la resistencia a alguno de los componentes del régimen es poco probable (que no hayan sido tratados previamente por más de 1 mes con alguno de estos fármacos). Este régimen se basa en una fase intensiva de 4-6 meses con: kanamicina, moxifloxacina, clofazimina, etionamida, PZA, EMB y altas dosis de INH; seguido de una fase de mantenimiento de 5 meses con: moxifloxacina, clofazimina, PZA y EMB^{6,9}. Por otro lado, en los países subdesarrollados o con pocos recursos se ha recomendado el uso de la estrategia DOTS-Plus que incluye un régimen de 6 fármacos (kanamicina, levofloxacina, etionamida, cicloserina, PZA y EMB) por un periodo de 6-9 meses en una fase intensiva y luego por 18 meses 4 fármacos (levofloxacina, etionamida, cicloserina y etambutol), requiriendo un mínimo de 18 meses de tratamiento luego de la conversión del cultivo⁵⁸.

El monitoreo del tratamiento es recomendado por la OMS a través del cultivo del esputo, el cuál debe repetirse de forma mensual. A su vez, el modelo de tratamiento sigue siendo ambulatorio, recomendándose siempre un modelo descentralizado y debe asociarse siempre medidas que mejoren la adherencia terapéutica como educación a los pacientes, apoyo (alimentos o ayudas financieras), soporte psicológico, formación al personal de salud, comunicación con el paciente o monitores digitales⁶.

La conversión de cultivo es uno de los principales indicadores de éxito en el tratamiento y, en el caso de la TBC sensible a tratamiento, está definida por dos cultivos negativos recolectados en al menos 1 mes de diferencia, por otro lado, el tiempo de conversión del cultivo se define desde el inicio de la terapia farmacológica hasta la fecha del primero de los cultivos negativos seriados, sin embargo en el escenario clínico de la TBC-MDR aún existen varios criterios y no se ha llegado a un consenso definitivo. En un estudio realizado con la data del Programa DOTS en adultos con cultivos positivos y TBC-MDR, los cuáles iniciaron tratamiento con fármacos de segunda línea entre 2000-2003, evidenciaron que los cultivos positivos basales se convirtieron en una mediana de 3 meses y que los factores predictores de falla en la conversión fueron: la resistencia a la PZA, FQ, tioamidas, uso previo de FQ, falla en el tratamiento previo y alcoholismo. También evaluaron los criterios de conversión, encontrando una sensibilidad del 84% y especificidad del 94% para predecir falla del tratamiento cuando se presentaba ausencia de conversión luego de 9 meses de terapia farmacológica, utilizando como criterio de conversión: 5 cultivos negativos consecutivos¹⁰⁷.

Nuevas estrategias en estudio

Otros fármacos están bajo investigación para conocer su eficacia frente a TBC y posteriormente frente a TBC-MDR, entre estos los más prometedores son el PA-824 o pretonamida, que es un nitroimidazol similar a la delamanida, con el potencial de disminuir el tiempo de tratamiento en estos pacientes, que es uno de los principales aspectos a conseguir en los regímenes terapéuticos usados para esta enfermedad. Este fármaco se encuentra actualmente en Fase III de ensayos clínicos, siendo probado en un régimen corto de 6 meses con bedaquilina y linezolid o "NiX-TB" (NCT02333799), así como en conjunto a moxifloxacina y PZA en el ensayo clínico "STAND" (NCT02342886) y en el régimen "BPamZ" (bedaquilina+PA-824+moxifloxacina+PZA) (NCT03338621).

Se están evaluando también en fases clínicas fármacos del grupo de las oxazolidinonas (sutezolid, delpazolid y posizolid; mecanismo de acción: inhibición de la síntesis de proteínas en el ribosoma 23S), imidazopiridina (telacebec; mecanismo de acción: inhibición de la síntesis del ATP), etilenodiamina (SQ109; mecanismo de acción: inhibición de la síntesis de la pared celular al inhibir al transportador MmpL3), oxaborol (GSK-3036656; mecanismo de acción: inhibidores de la leucil-ARNt sintetasa) y las benzotiazinonas (PBTZ169, OPC-167832 y TBA-7371; mecanismo de acción: inhibidores de la síntesis de la pared celular)^{108,109}. Los ensayos clínicos más recientes de estos fármacos se encuentran en la **Tabla 4**. Por otro lado, en fases preclínicas también se encuentran otros fármacos que están siendo evaluados y próximamente estará entrando en el ámbito clínico^{110,111}.

Tabla 4. Fármacos evaluados para el tratamiento de la tuberculosis multirresistente en fase preclínica.

Fármacos o Régimen	Fase clínica	NCT	Estado
PA-824 o Pretonamida (nitroimidazol)			
Moxifloxacina + PA-824 + PZA (STAND)	III	NCT02342886	Completado
Bedaquilina + PA-824 + Linezolid (NiX-TB)	III	NCT02333799	Activo, no reclutando
Linezolid + PA-824 + Bedaquilina + Placebo (ZeNiX)	III	NCT03086486	Reclutando
Bedaquilina + PA-824 + Moxifloxacina + PZA (SimpliciTB)	III	NCT03338621	Reclutando
Bedaquilina + PA-824 + Moxifloxacina + Linezolid + Clofazimina (TB-PRACTECAL)	II-III	NCT02589782	Reclutando
Sutezolid o PNU-100480 (oxazolidinona)			
Monoterapia versus RHEZ	II	NCT01225640	Completado
Delpazolid o LCB01-0371 (oxazolidinona)			
Monoterapia	II	NCT02836483	Reclutando
Q203 o Telacebec (imidazopiridina)			
Monoterapia versus régimen convencional (RHEZ)	II	NCT03563599	Activo, no reclutando
SQ109 (etilenodiamina)			
INH + RIF + PZA + SQ109	II	NCT01785186	Completado
AZD5847 o Posizolid (oxazolidona)			
Monoterapia versus régimen convencional (RHEZ)	II	NCT01516203	Completado
GSK3036656 (oxaborol)			
Monoterapia versus RIFAFOUR*	II	NCT03557281	No reclutando aún
PBTZ169 (benzotiazinona)			
Monoterapia versus placebo	I	NCT03776500	Reclutando
OPC-167832 (benzotiazinona)			
Monoterapia versus + delamanida versus convencional (RHEZ)	I/II	NCT03678688	Reclutando
TBA-7371 (benzotiazinona)			
Monoterapia versus placebo	I	NCT03199339	Completado

INH: isoniazida; PZA: pirazinamida; RHEZ: rifampicina, isoniazida, etambutol y pirazinamida; RIF: rifampicina.

*RIFAFOUR incluye una sola tableta con rifampicina, isoniazida, pirazinamida y etambutol.

La Nitazoxanida es un fármaco utilizado globalmente como antiparasitario y para otros microorganismos, el cual también ha sido replanteado para ser usado frente a la TBC y se encuentra actualmente en la Fase II de ensayos clínicos y se espera que entre en regímenes frente a pacientes multirresistentes¹¹². También se están evaluando nuevos regímenes terapéuticos con fármacos previamente aprobados o replanteados, como en el ensayo clínico “STREAM” que se encuentra actualmente en Fase III (NCT02409290), el ensayo clínico “NeXT”, actualmente en Fase III (NCT02454205), el ensayo clínico “endTB”, actualmente en Fase III (NCT02754765) y el ensayo clínico “MDR-END”, actualmente en Fase II (NCT02619994), cuyos objetivos buscan reducir el tiempo de tratamiento y disminuir efectos adversos. La bedaquilina, delamanida y el linezolid son los fármacos con los resultados más esperanzadores y podrían adquirir un rol prominente en los próximos años¹¹⁴. Por otro lado, el ensayo clínico “InDex”, actualmente en Fase IV, está evaluando el uso de la secuenciación genómica previo a la implementación del tratamiento para individualizar la terapia según la resistencia farmacológica, lo que mejoraría los resultados a los 6 meses de tratamiento (NCT03237182).

Las terapias dirigidas al hospedador (*Host-directed therapies, en inglés*) constituyen una estrategia adyuvante de in-

munomodulación que tiene como objetivo acortar la duración del tratamiento, prevenir la resistencia farmacológica, mejorar la respuesta inmune o limitar el daño tisular que empeora los resultados de la enfermedad¹¹⁵. Esta terapia usa fármacos nuevos o replantea el uso de algunas drogas aprobadas con otros fines, siendo los más conocidos imatinib (inhibidor de la tirosina cinasa utilizado en el tratamiento de leucemia), metformina (tratamiento para la diabetes), dosis sub-antimicrobianas de doxiciclina (como inhibidor no específico de las metaloproteinasas) y CC-11050 (inhibidor de la fosfodiesterasa 4 utilizado como antiinflamatorio en patologías como la psoriasis)¹¹⁶. A pesar de estarse planteando muchas dianas de tratamiento basadas en esta terapia¹¹⁷, en la actualidad, hay un solo ensayo clínico de Fase II en curso que está evaluando la terapia dirigida al hospedador, en donde se está comparando el régimen 2HRbZE/4HRb solo y combinado con Everolimus (inmunosupresor), Auranofina (antirreumático), Vitamina D³ y el CC-11050, que está próximo a publicar su resultados (NCT02968927).

Por otro lado, la proteómica (a través de técnicas como la electroforesis en gel 2D y la espectrometría de masas) y la bioinformática (como medio de análisis de sus resultados), son estrategias que pueden ser aplicadas en el campo de la TBC-MDR para el desarrollo de nuevos biomarcadores diag-

nósticos o dianas farmacológicas al describir el “resistoma” o perfil proteico de las cepas resistentes a fármacos y las vías metabólicas en donde intervienen. Esto sería de vital importancia en algunos casos de resistencia farmacológica donde no se encuentren mutaciones genéticas y se desconozca la causa^{118,119}. Por último, la terapia génica a través del sistema CRISPR/Cas9 es una opción atractiva para ser utilizado en la caracterización de la función de los genes de las micobacterias e identificar potenciales dianas farmacológicas, asimismo, se puede usar para la edición del genoma de MTB en el escenario clínico de la resistencia farmacológica permitiendo la represión de uno o varios genes^{120,121}.

Prevención y control de la TBC resistente a fármacos

En líneas generales, la prevención y control de la TBC resistente a fármacos inicia con medidas propias de la enfermedad, iniciando con el desarrollo y la inclusión de los pacientes en riesgo a programas de vacunación, cribado y control sanitario. El cribado con la PPD o tuberculina, supervisión del tratamiento, el aislamiento y la protección respiratoria son algunas de las estrategias que son recomendadas en la actualidad para disminuir el impacto y diseminación de la TBC en la población. En el personal de salud, el uso de mascarillas de protección respiratoria (N95 o FFP-II) y la formación para su uso adecuado durante la atención de un paciente con TBC, o procedimientos donde pueda haber contacto con fluido contaminado, es fundamental para evitar la transmisión nosocomial^{106,122,123}.

Específicamente para la prevención de TBC-MDR, las mejores estrategias se basan en el adecuado tratamiento y seguimiento de los casos susceptibles, previniendo los casos de resistencia. Por otro lado, el diagnóstico precoz y el tratamiento óptimo con fármacos antituberculosis basado en pruebas de sensibilidad, y en los casos HIV-positivos, el uso de la terapia antiretroviral^{10,106}. En relación, a la investigación de los contactos y la quimioprofilaxis, no hay un consenso aún pero se ha demostrado que el uso de FQ puede ser considerada^{123,124}, aunque se recomienda también esperar los resultados de las pruebas de susceptibilidad farmacológica de la fuente de infección para realizar un tratamiento personalizado¹²⁵.

Conclusiones

La TBC sigue siendo una de las principales causas de morbimortalidad a nivel mundial a pesar de todos los avances realizados en los últimos años, especialmente en algunos países en Asia y África, donde lamentablemente no se han cumplido los objetivos planteados por la OMS. Una de las causas de esta importante problemática es la cada vez más frecuente resistencia farmacológica de las cepas de MTB, que ocasiona peores resultados terapéuticos. Si bien, en Latinoamérica se está avanzando en el control y prevención de esta enfermedad, también se está incrementando cada vez más los casos de fármacorresistencia y por ende, se pone en peligro el alcance de los objetivos en esta región. Por esta razón, diversas sociedades e instituciones apuestan al control de este temible enemigo mediante la implementación cada vez

mayor de las pruebas moleculares y la secuenciación genómica del ADN para el diagnóstico temprano de la enfermedad y la resistencia a fármacos, en conjunto con otras técnicas como la proteómica, la bioinformática y la terapia génica que se utilizarían con el fin de erradicar esta patología.

Por otro lado, cada día se conoce más sobre los mecanismos moleculares de resistencia farmacológica y los genes responsables, lo que permite dar una terapia individualizada según la susceptibilidad y desarrollar nuevas dianas terapéuticas. En relación a los nuevos fármacos en proceso de desarrollo, generan esperanza a los pacientes afectados con TBC-MDR y TBC-ER, pero aún falta tiempo para su aplicación global, siendo necesario primero optimizar las dosis, los regímenes terapéuticos, su duración, interacciones farmacológicas y el perfil de seguridad, por lo tanto sus implicaciones clínicas se verán en los próximos años.

Abreviaturas

CMT	Complejo Mycobacterium tuberculosis
EMB	Etambutol
FQ	Fluoroquinolonas
INH	Isoniacida
PZA	Pirazinamida
RIF	Rifampicina
MTB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
TBC	Tuberculosis
TBC-MDR	Tuberculosis-multidrogorresistente
TBC-ER	Tuberculosis-extensamente resistente
TBC-preER	Tuberculosis- pre extensamente resistente
HIV	Virus de inmunodeficiencia humana

Declaración de conflicto de interés

Los autores de esta investigación declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

1. Basaraba RJ, Hunter RL. Pathology of Tuberculosis: How the Pathology of Human Tuberculosis Informs and Directs Animal Models. *Microbiol Spectr*. 2017;5(3):1-13.
2. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2018. Geneva: World Health Organization; 2018.
3. Mellado Peña MJ, Baquero-Artigao F, Moreno-Perez D. Documento de consenso de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica sobre la tuberculosis resistente a fármacos. *An Pediatr*. 2009;71(5):447-58.

4. Ayerbe CG, Gallego MJV, Guillén SM. Tuberculosis multirresistente: epidemiología actual, esquemas terapéuticos, nuevos fármacos. *Rev Esp Quimioter.* 2016;29(Extra 1):35-8.
5. Koch A, Cox H, Mizrahi V. Drug-resistant tuberculosis: challenges and opportunities for diagnosis and treatment. *Curr Opin Pharmacol.* 2018;42:7-15.
6. World Health Organization. WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization; 2019. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/311389/9789241550529-eng.pdf?ua=1>
7. Alcaide F, Esteban J, González-Martin J, Palacios J-J. Métodos de determinación de sensibilidad a los antimicrobianos en micobacterias. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* 2017;35(8):529-35.
8. Organización Panamericana de la Salud. Definiciones y marco de trabajo para la notificación de Tuberculosis- Revisión 2013 [Internet]. Organización Mundial para la Salud; 2013. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2013/PAHO-definiciones-marco-TB-2013-Spa-1.pdf>
9. Dheda K, Gumbo T, Gandhi NR, Murray M, Theron G, Udwadia Z, et al. Global control of tuberculosis: from extensively drug-resistant to untreatable tuberculosis. *Lancet Respir Med.* 2014;2(4):321-38.
10. Pontali E, Matteelli A, Migliori GB. Drug-resistant tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2013;19(3):266-72.
11. van Soolingen D, Qian L, de Haas PE, Douglas JT, Traore H, Portaels F, et al. Predominance of a single genotype of Mycobacterium tuberculosis in countries of east Asia. *J Clin Microbiol.* 1995;33(12):3234-8.
12. Mokrousov I. Genetic geography of Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype: a multifacet mirror of human history? *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis.* 2008;8(6):777-85.
13. Kato-Maeda M, Bifani PJ, Kreiswirth BN, Small PM. The nature and consequence of genetic variability within Mycobacterium tuberculosis. *J Clin Invest.* 2001;107(5):533-7.
14. Mokrousov I, Vyazovaya A, Solovieva N, Sunchalina T, Markelov Y, Chernyaeva E, et al. Trends in molecular epidemiology of drug-resistant tuberculosis in Republic of Karelia, Russian Federation. *BMC Microbiol.* 2015;15:279.
15. Pang Y, Zhou Y, Zhao B, Liu G, Jiang G, Xia H, et al. Spoligotyping and Drug Resistance Analysis of Mycobacterium tuberculosis Strains from National Survey in China. *PLoS ONE.* 2012;7(3):e32976.
16. Organización Panamericana de la Salud. Plan of action for the prevention and control of Tuberculosis. Washington (D.C.): World Health Organization; 2015. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/CD54-11-e.pdf>
17. Torres-Duque CA, Fuentes Alcalá ZM, Rendón A, Migliori GB. Hoja de ruta para la eliminación de la tuberculosis en Latinoamérica y el Caribe. *Arch Bronconeumol.* 2018;54(1):7-9.
18. Organización Panamericana de la Salud. Tuberculosis Multidrogorresistente (TB-MDR) en las Américas [Internet]. 2016. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2016/2016-cha-tb-mdr-americas.pdf>
19. Rabahi MF, da Silva JLR, Conde MB. Evaluation of the impact that the changes in tuberculosis treatment implemented in Brazil in 2009 have had on disease control in the country. *J Bras Pneumol.* 2017;43(6):437-44.
20. Bollela VR, Puga FG, Moya MJ. A decade trend of multidrug resistant tuberculosis in SÃO PAULO state, Brazil. *Rev Inst Med Trio Sao Paulo.* 2016;58(77).
21. Juárez-Eusebio DM, Munro-Rojas D, Muñiz-Salazar R, Laniado-Laborín R, Martínez-Guarneros JA, Flores-López CA, et al. Molecular characterization of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from high prevalence tuberculosis states in Mexico. *Infect Genet Evol.* 2017;55:384-91.
22. Cáceres O, Rastogi N, Bartra C, Couvin D, Galarza M, Asencios L, et al. Characterization of the Genetic Diversity of Extensively-Drug Resistant Mycobacterium tuberculosis Clinical Isolates from Pulmonary Tuberculosis Patients in Peru. *PLoS ONE.* 2014;9(12):e112789.
23. Monteserin J, Camacho M, Barrera L, Palomino J, Ritacco V, Martin A. Genotypes of Mycobacterium tuberculosis in patients at risk of drug resistance in Bolivia. *Infect Genet Evol.* 2013;17:195-201.
24. Imperiale BR, Zumárraga MJ, Di Giulio AB, Cataldi AA, Morcillo NS. Molecular and phenotypic characterisation of Mycobacterium tuberculosis resistant to anti-tuberculosis drugs. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013;17(8):1088-93.
25. Puerto G, Erazo L, Wintaco M, Castro C, Ribón W, Guerrero MI. Mycobacterium tuberculosis Genotypes Determined by Spoligotyping to Be Circulating in Colombia between 1999 and 2012 and Their Possible Associations with Transmission and Susceptibility to First-Line Drugs. *PLoS ONE.* 2015;10(6).
26. Goldberg MF, Saini NK, Porcelli SA. Evasion of Innate and Adaptive Immunity by Mycobacterium tuberculosis. *Microbiol Spectr.* 2014;2(5).
27. Brauner A, Fridman O, Gefen O, Balaban NQ. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(5):320-30.
28. Gagneux S. Ecology and evolution of Mycobacterium tuberculosis. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(4):202-13.
29. Nguyen QH, Contamin L, Nguyen TVA, Bañuls A-L. Insights into the processes that drive the evolution of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Evol Appl.* 2018;11(9):1498-511.
30. Chatterjee A, Saranath D, Bhattar P, Mistry N. Global transcriptional profiling of longitudinal clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis exhibiting rapid accumulation of drug resistance. *PLoS One.* 2013;8(1):e54717.
31. Machado D, Couto I, Perdigão J, Rodrigues L, Portugal I, Baptista P, et al. Contribution of efflux to the emergence of isoniazid and multidrug resistance in Mycobacterium tuberculosis. *PLoS One.* 2012;7(4):e34538.
32. Zhang Y, Yew W-W. Mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: update 2015. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2015;19(11):1276-89.
33. Palomino JC, Martin A. Drug Resistance Mechanisms in Mycobacterium tuberculosis. *Antibiotics.* 2014;3(3):317-40.
34. Kashyap A, Singh PK, Silakari O. Mechanistic investigation of resistance via drug-inactivating enzymes in Mycobacterium tuberculosis. *Drug Metab Rev.* 2018;50(4):448-65.
35. Dookie N, Rambaran S, Padayatchi N, Mahomed S, Naidoo K. Evolution of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: a review on the molecular determinants of resistance and implications for personalized care. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(5):1138-51.
36. Nguyen L. Antibiotic resistance mechanisms in M. tuberculosis: an update. *Arch Toxicol.* 2016;90(7):1585-604.
37. Smith T, Wolff KA, Nguyen L. Molecular Biology of Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2013;374:53-80.

38. Miotto P, Zhang Y, Cirillo DM, Yam WC. Drug resistance mechanisms and drug susceptibility testing for tuberculosis. *Respirol Carlton Vic.* 2018;23(12):1098-113.
39. Li X, Zhang Y, Shen X, Shen G, Gui X, Sun B, et al. Transmission of drug-resistant tuberculosis among treated patients in Shanghai, China. *J Infect Dis.* 2007;195(6):864-9.
40. Joshi R, Reingold AL, Menzies D, Pai M. Tuberculosis among health-care workers in low- and middle-income countries: a systematic review. *PLoS Med.* 2006;3(12):e494.
41. Seung KJ, Keshavjee S, Rich ML. Multidrug-Resistant Tuberculosis and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;5(9):a017863.
42. Brown AC, Bryant JM, Einer-Jensen K, Holdstock J, Houniet DT, Chan JZM, et al. Rapid Whole-Genome Sequencing of Mycobacterium tuberculosis Isolates Directly from Clinical Samples. *J Clin Microbiol.* 2015;53(7):2230-7.
43. Votintseva AA, Pankhurst LJ, Anson LW, Morgan MR, Gascoyne-Binzi D, Walker TM, et al. Mycobacterial DNA extraction for whole-genome sequencing from early positive liquid (MGIT) cultures. *J Clin Microbiol.* 2015;53(4):1137-43.
44. Relational Sequencing TB data platform [Internet]. Disponible en: <https://platform.reseqtb.org/>
45. Coll F, Phelan J, Hill-Cawthorne GA, Nair MB, Mallard K, Ali S, et al. Genome-wide analysis of multi- and extensively drug-resistant Mycobacterium tuberculosis. *Nat Genet.* 2018;50(2):307-16.
46. Manson AL, Cohen KA, Abeel T, Desjardins CA, Armstrong DT, Barry CE, et al. Genomic analysis of globally diverse Mycobacterium tuberculosis strains provides insights into the emergence and spread of multidrug resistance. *Nat Genet.* 2017;49(3):395-402.
47. McNerney R, Zignol M, Clark TG. Use of whole genome sequencing in surveillance of drug resistant tuberculosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2018;16(5):433-42.
48. Zhao P, Li XJ, Zhang SF, Wang XS, Liu CY. Social behaviour risk factors for drug resistant tuberculosis in mainland China: a meta-analysis. *J Int Med Res.* 2012;40(2):436-45.
49. Skrahina A, Hurevich H, Zalutskaya A, Sahalchik E, Astrauko A, Hoffner S, et al. Multidrug-resistant tuberculosis in Belarus: the size of the problem and associated risk factors. *Bull World Health Organ.* 2013;91(1):36-45.
50. Alene KA, Viney K, McBryde ES, Gray DJ, Melku M, Clements ACA. Risk factors for multidrug-resistant tuberculosis in northwest Ethiopia: a case-control study. *Transbound Emerg Dis.* 2019.
51. Gobena D, Ameya G, Haile K, Abreha G, Worku Y, Debela T. Predictor of multidrug resistant tuberculosis in southwestern part of Ethiopia: a case control study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2018;17(1):30.
52. Baya B, Achenbach CJ, Kone B, Toloba Y, Dabita DK, Diarra B, et al. Clinical risk factors associated with multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) in Mali. *Int J Infect Dis.* 2019;81:149-55.
53. Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, Pawinski R, Govender T, Lalloo U, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet Lond Engl.* 2006;368(9547):1575-80.
54. Pradipta IS, Forsman LD, Bruchfeld J, Hak E, Alffenaar JW. Risk factors of multidrug-resistant tuberculosis: A global systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2018;77(6):469-78.
55. Raviglione M, Marais B, Floyd K, Lönnroth K, Getahun H, Migliori GB, et al. Scaling up interventions to achieve global tuberculosis control: progress and new developments. *Lancet Lond Engl.* 2012;379(9829):1902-13.
56. Prasad R, Gupta N, Banka A. Multidrug-resistant tuberculosis/rifampicin-resistant tuberculosis: Principles of management. *Lung India.* 2018;35(1):78.
57. Wang YXJ, Chung MJ, Skrahin A, Rosenthal A, Gabrielian A, Tartakovsky M. Radiological signs associated with pulmonary multi-drug resistant tuberculosis: an analysis of published evidences. *Quant Imaging Med Surg.* 2018;8(2):161-73.
58. Prasad R. Multidrug and extensively drug-resistant tuberculosis management: Evidences and controversies. *Lung India.* 2012;29(2):154-9.
59. Dheda K, Chang KC, Guglielmetti L, Furin J, Schaaf HS, Chesov D, et al. Clinical management of adults and children with multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(3):131-40.
60. Teran R, de Waard J. Recientes avances en el diagnóstico de tuberculosis en el laboratorio clínico. *eJFCC.* 2015;26(4):310-25.
61. World Health Organization. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2013. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112472/9789241506335_eng.pdf?sequence=1
62. Nicol MP, Whitelaw A, Wendy S. Using Xpert MTB/RIF. *Curr Respir Med Rev.* 2013;9:187-92.
63. Vergara Gómez A, González-Martín J, García-Basteiro AL. Xpert® MTB/RIF: utilidad en el diagnóstico de la tuberculosis y de la resistencia a la rifampicina. *Med Clínica.* 2017;149(9):399-405.
64. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® Mtb/Rif assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;(1):1-166.
65. Arias M F, Herrera M T. Nuevos métodos para el diagnóstico de la tuberculosis. *Rev Chil Enfermedades Respir.* 2016;32(4):254-9.
66. Rice JP, Seifert M, Moser KS, Rodwell TC. Performance of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in a low-incidence, high-resource setting. *PLoS One.* 2017;12(10):e0186139.
67. Dorman SE, Schumacher SG, Alland D, Nabeta P, Armstrong DT, King B, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(1):76-84.
68. Atashi S, Izadi B, Jalilian S, Madani SH, Farahani A, Mohajeri P. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for determination of rifampicin resistance among new tuberculosis cases in west and northwest Iran. *New Microbes New Infect.* 2017;19:117-20.
69. Huang H, Zhang Y, Li S, Wang J, Chen J, Pan Z, et al. Rifampicin Resistance and Multidrug-Resistant Tuberculosis Detection Using Xpert MTB/RIF in Wuhan, China: A Retrospective Study. *Microb Drug Resist Larchmt N.* 2018;24(5):675-9.
70. Tadesse M, Aragaw D, Dimah B, Efa F, Abebe G. Xpert MTB/RIF for rapid detection of rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis from pulmonary tuberculosis patients in Southwest Ethiopia. *Int J Mycobacteriology.* 2016;5 Suppl 1:S48-9.

71. Kohli M, Schiller I, Dendukuri N, Dheda K, Denkinger CM, Schumacher SG, et al. Xpert® MTB/RIF assay for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;8:CD012768.
72. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance. *N Engl J Med*. 2010;363(11):1005-15.
73. Carriquiry G, Otero L, González-Lagos E, Zamudio C, Sánchez E, Nabeta P, et al. A Diagnostic Accuracy Study of Xpert®MTB/RIF in HIV-Positive Patients with High Clinical Suspicion of Pulmonary Tuberculosis in Lima, Peru. *PLoS ONE*. 2012;7(9):e44626.
74. Durovni B, Saraceni V, van den Hof S, Trajman A, Cordeiro-Santos M, Cavalcante S, et al. Impact of replacing smear microscopy with Xpert MTB/RIF for diagnosing tuberculosis in Brazil: a stepped-wedge cluster-randomized trial. *PLoS Med*. 2014;11(12):e1001766.
75. Barriga Angulo G, Trejo MS, Rosas AA, Álvarez LL, Cruz FR, Hernández MEM, et al. Evaluación de la prueba GeneXpert MTB/RIF en el diagnóstico rápido de la tuberculosis y de la resistencia a rifampicina en muestras extrapulmonares. *Rev Latinoam Patol Clínica*. 2014;61(3):140-4.
76. Atehortúa S, Ramírez F, Echeverri LM, Peñata A, Ospina S. Rendimiento de la prueba Xpert MTB/RIF en muestras respiratorias en un escenario real de trabajo de un país en desarrollo. *Biomédica*. 2015;35(1):125-30.
77. Pardón F, Andrade S, Campaña L, Jinéz H, Barberán JP, Valdés Y, et al. Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampicin Resistance in Ecuador. *Adv Infect Dis*. 2017;07:126.
78. Organización Panamericana de la Salud. Diagnóstico de Tuberculosis Xpert MTB/Rif® [Internet]. Organización Mundial para la Salud; 2014. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2014/2014-hoja-informativa-Diagnostico-tb-1.pdf>
79. André E, Goeminne L, Colmant A, Beckert P, Niemann S, Delmee M. Novel rapid PCR for the detection of Ile491Phe rpoB mutation of Mycobacterium tuberculosis, a rifampicin-resistance-conferring mutation undetected by commercial assays. *Clin Microbiol Infect*. 2017;23(4):267.e5-267.e7.
80. World Health Organization. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to isoniazid and rifampicin: policy update. Geneva: World Health Organization; 2016.
81. World Health Organization. Report for WHO: Non-inferiority Evaluation of Nipro NTM+MDRTB and Hain GenoType MTBDRplus V2 line probe assays [Internet]. 2015. Disponible en: http://www.finddx.org/wp-content/uploads/2016/04/LPA-report_noninferiority-study_oct2015.pdf
82. Liu Q, Li G-L, Chen C, Wang J-M, Martinez L, Lu W, et al. Diagnostic Performance of the GenoType MTBDRplus and MTBDRsl Assays to Identify Tuberculosis Drug Resistance in Eastern China. *Chin Med J (Engl)*. 2017;130(13):1521-8.
83. Jian J, Yang X, Yang J, Chen L. Evaluation of the GenoType MTBDRplus and MTBDRsl for the detection of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis on isolates from Beijing, China. *Infect Drug Resist*. 2018;11:1627-34.
84. Karimi H, En-Nanai L, Oudghiri A, Chaoui I, Laglaoui A, Bourkadi JE, et al. Performance of GenoType® MTBDRplus assay in the diagnosis of drug-resistant tuberculosis in Tangier, Morocco. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018;12:63-7.
85. Abanda NN, Djeugoué JY, Lim E, Pefura-Yone EW, Mbacham WF, Vernet G, et al. Diagnostic accuracy and usefulness of the Genotype MTBDRplus assay in diagnosing multidrug-resistant tuberculosis in Cameroon? a cross-sectional study. *BMC Infect Dis*. 2017;17(1):379.
86. Barnard M, van Pittius NCG, van Helden PD, Bosman M, Coetzee G, Warren RM. The Diagnostic Performance of the GenoType MTBDRplus Version 2 Line Probe Assay Is Equivalent to That of the Xpert MTB/RIF Assay. *J Clin Microbiol*. 2012;50(11):3712-6.
87. Asencios L, Galarza M, Quispe N, Vásquez L, Leo E, Valencia E, et al. Prueba molecular Genotype® MTBDRplus, una alternativa para la detección rápida de tuberculosis multidrogorresistente. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2012;29(1):92-8.
88. Imperiale BR, Zumárraga MJ, Weltman G, Zudiker R, Cataldi AA, Morcillo NS. First evaluation in Argentina of the GenoType® MTBDRplus assay for multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis detection from clinical isolates and specimens. *Rev Argent Microbiol*. 2012;44(4):283-9.
89. Ferro BE, García PK, Nieto LM, van Soolingen D. Predictive value of molecular drug resistance testing of Mycobacterium tuberculosis isolates in Valle del Cauca, Colombia. *J Clin Microbiol*. 2013;51(7):2220-4.
90. Rueda J, Realpe T, Mejía G, Zapata E, Robledo J. GenoType MTBDRplus 1.0® for the detection of cross-resistance between isoniazide and ethionamide in isolates of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis. *Biomédica*. 2015;35(4):541-8.
91. Lanzas F, Iøerger TR, Shah H, Acosta W, Karakousis PC. First Evaluation of GenoType MTBDRplus 2.0 Performed Directly on Respiratory Specimens in Central America. *J Clin Microbiol*. 2016;54(10):2498-502.
92. Dantas NGT, Suffys PN, Carvalho W da S, Gomes HM, Almeida IN de, Figueiredo LJ de A, et al. Correlation between the BACTEC MGIT 960 culture system with Genotype MTBDRplus and TB-SPRINT in multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis clinical isolates from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2017;112(11):769-74.
93. Joob B, Wiwanitkit V. Diagnostic performance of GenoType® MTBDRplus line probe assay. *Int J Mycobacteriology*. 2017;6(3):322.
94. Meaza A, Kebede A, Yaregal Z, Dagne Z, Moga S, Yenew B, et al. Evaluation of genotype MTBDRplus VER 2.0 line probe assay for the detection of MDR-TB in smear positive and negative sputum samples. *BMC Infect Dis*. 2017;17(280).
95. Ramachandran R, Muniyandi M. Rapid molecular diagnostics for multi-drug resistant tuberculosis in India. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2018;16(3):197-204.
96. Theron G, Peter J, Richardson M, Barnard M, Donegan S, Warren R, et al. The diagnostic accuracy of the GenoType(®) MTBDRsl assay for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;(10):CD010705.
97. World Health Organization. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. Policy guidance. [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2016. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246131/9789241510561-eng.pdf?sequence=1>
98. Skenders GK, Holtz TH, Riekstina V, Leimane V. Implementation of the INNO-LiPA Rif. TB® line-probe assay in rapid detection of multidrug-resistant tuberculosis in Latvia. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15(11):1546-52.
99. World Health Organization. Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multi-drug resistant Tuberculosis (MDR-TB). Expert Group Report [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2008. Disponible en: https://www.who.int/tb/features_

100. Takiff HE, Feo O. Clinical value of whole-genome sequencing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Lancet Infect Dis*. 2015;15(9):1077-90.
101. Lohrasbi V, Talebi M, Bialvaei AZ, Fattorini L, Drancourt M, Heidary M, et al. Trends in the discovery of new drugs for *Mycobacterium tuberculosis* therapy with a glance at resistance. *Tuberc Edinb Scotl*. 2018;109:17-27.
102. European Medicines Agency. Delyba, INN-Delamanid. [Internet]. 2013. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/delyba-epar-product-information_es.pdf
103. Food and Drug Administration (FDA). SIRTURO (bedaquiline). [Internet]. 2012. Disponible en: https://www.accessdata.fda.gov/drug-satfda_docs/label/2013/204384s002lbl.pdf
104. Sharma D, Dhuriya YK, Deo N, Bisht D. Repurposing and Revival of the Drugs: A New Approach to Combat the Drug Resistant Tuberculosis. *Front Microbiol*. 2017;8:2452.
105. Kurz SG, Furin JJ, Bark CM. Drug Resistant Tuberculosis: Challenges and Progress. *Infect Dis Clin North Am*. 2016;30(2):509-22.
106. Seaworth BJ, Griffith DE. Therapy of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. *Microbiol Spectr*. 2017;5(2).
107. Kurbatova EV, Gammino VM, Bayona J, Becerra MC, Danilovitz M, Falzon D, et al. Predictors of sputum culture conversion among patients treated for multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2012;16(10):1335-43.
108. Silva DR, Dalcolmo M, Tiberi S, Arbex MA, Munoz-Torrico M, Duarte R, et al. New and repurposed drugs to treat multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis. *J Bras Pneumol*. 2018;44(2):153-60.
109. Schito M, Migliori GB, Fletcher HA, McNerney R, Centis R, D'Ambrosio L, et al. Perspectives on Advances in Tuberculosis Diagnostics, Drugs, and Vaccines. *Clin Infect Dis*. 2015;61(Suppl 3):S102.
110. Working Group on New TB Drugs. Discovery [Internet]. 2016. Disponible en: <https://www.newtbdrugs.org/pipeline/discovery>
111. Tiberi S, Muñoz-Torrico M, Duarte R, Dalcolmo M, D'Ambrosio L, Migliori G-B. New drugs and perspectives for new anti-tuberculosis regimens. *Pulmonology*. 2018;24(2):86-98.
112. Shigyo K, Ocheretina O, Merveille YM, Johnson WD, Pape JW, Nathan CF, et al. Efficacy of nitazoxanide against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(6):2834-7.
113. Kwon Y-S. Clinical Implications of New Drugs and Regimens for the Treatment of Drug-resistant Tuberculosis. *Chonnam Med J*. 2017;53(2):103-9.
114. Rendon A, Tiberi S, Scardigli A, D'Ambrosio L, Centis R, Caminero JA, et al. Classification of drugs to treat multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB): evidence and perspectives. *J Thorac Dis*. 2016;8(10):2666.
115. Tobin DM. Host-Directed Therapies for Tuberculosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5(10):a021196.
116. Wallis RS, Maeurer M, Mwaba P, Chakaya J, Rustomjee R, Migliori GB, et al. Tuberculosis--advances in development of new drugs, treatment regimens, host-directed therapies, and biomarkers. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(4):e34-46.
117. Kolloli A, Subbian S. Host-Directed Therapeutic Strategies for Tuberculosis. *Front Med*. 2017;4:171.
118. Sharma D, Deo N, Bisht D. Proteomics and Bioinformatics: A Modern Way to Elucidate the Resistome in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Proteomics Bioinform*. 2017;10(6).
119. Sharma D, Bisht D, Khan AU. Potential Alternative Strategy against Drug Resistant Tuberculosis: A Proteomics Prospect. *Proteomes*. 2018;6(2):26.
120. Choudhary E, Thakur P, Pareek M, Agarwal N. Gene silencing by CRISPR interference in mycobacteria. *Nat Commun*. 2015;6:6267.
121. Singh AK, Carette X, Potluri L-P, Sharp JD, Xu R, Priscic S, et al. Investigating essential gene function in *Mycobacterium tuberculosis* using an efficient CRISPR interference system. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(18):e143.
122. Navas Elorza E, Moreno Guillén S. Tuberculosis multirresistente y extremadamente resistente. *Rev Esp Sanid Penit*. 2010;12(3):91-8.
123. Fox GJ, Schaaf HS, Mandalakas A, Chiappini E, Zumla A, Marais BJ. Preventing the spread of multidrug-resistant tuberculosis and protecting contacts of infectious cases. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;23(3):147-53.
124. Padmapriyadarsini C, Das M, Nagaraja SB, Rajendran M, Kirubakaran R, Chadha S, et al. Is Chemoprophylaxis for Child Contacts of Drug-Resistant TB Patients Beneficial? A Systematic Review. *Tuberc Res Treat*. 2018;2018:3905890.
125. European Centre for Disease Prevention and Control. Management of contacts of MDR TB and XDR TsB patients. Stockholm: ECDC; 2012.