

Resistencia a Medicamentos en *Mycobacterium tuberculosis*: contribución de mecanismos constitutivos y adquiridos

Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: contribution of constituent and acquired mechanisms

Verónica J. Gómez-Tangarife, Alex J. Gómez-Restrepo, Jaime Robledo-Restrepo y José M. Hernández-Sarmiento

Recibido 22 julio 2015 / Enviado para modificación 19 mayo 2016 / Aceptado 12 febrero 2018

RESUMEN

VG: Bacterióloga y Laboratorista Clínico. M. Sc. Ciencias Médicas –Microbiología Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia. vero84gomez@hotmail.com

AG: Bibliotecólogo. M. Sc. Bibliotecología y Ciencias de la Información, Medellín, Colombia. Institución: Corporación para Investigaciones Biológicas. agomez@cib.org.co

JR: MD. Ph. D. Ciencias Médicas. – Microbiología, Institución: Universidad Pontificia Bolivariana y Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia. jrobledo@cib.org.co

JH: MD. M. Sc.; Ph. D. Ciencias Médicas - Microbiología., Institución: Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia. josem.hernandez@upb.edu.co

En presencia de aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) multifármaco-resistentes (MTB-MDR) y con resistencia extendida (MTB-XDR) las tasas de fracaso de los esquemas estandarizados de tratamiento son altas, constituyéndose en un verdadero problema de salud pública a nivel mundial. La fármaco-resistencia en MTB se debe principalmente a mutaciones en genes blanco; sin embargo, una proporción de aislamientos fármaco-resistentes no presentan mutaciones en dichos genes, sugiriendo la participación de otros mecanismos, tales como permeabilidad reducida de la pared celular, modificación enzimática y/o bombas de eflujo. La resistencia clínica a los medicamentos anti-tuberculosos (anti-TB) ocurre en gran parte como resultado de la selección de mutantes resistentes durante la falta de adherencia del paciente al tratamiento, inapropiados seguimientos y prescripción médica, dosis subóptimas de fármacos y dificultad de acceso a los servicios de salud y al tratamiento. Los Avances de la biología molecular y la secuenciación del genoma de MTB han contribuido a mejorar el entendimiento de los mecanismos de resistencia a los principales medicamentos anti-TB. Un mejor conocimiento de los mecanismos de fármaco-resistencia en MTB contribuirá a la identificación de nuevos blancos terapéuticos, al diseño de nuevos medicamentos, al desarrollo de nuevos métodos diagnósticos y/o mejorar las técnicas que actualmente están disponibles para la detección rápida de TB fármaco-resistente. Este artículo presenta una revisión actualizada de los mecanismos y las bases moleculares de la resistencia de MTB a medicamentos anti-TB.

Palabras Clave: Resistencia a medicamentos; *mycobacterium tuberculosis*; tuberculosis resistente a múltiples medicamentos (*fuentes: DeCS, BIREME*).

ABSTRACT

Due to the emergence of multi-drug resistant (MDR-MTB) and extensively drug-resistant (XDR-MTB) *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) isolates, the failure rates of standard treatment regimens are high, thus becoming a major public health challenge worldwide. Resistance to anti-tuberculous (anti-TB) drugs is attributed mainly to specific mutations in target genes; however, a proportion of drug-resistant MTB isolates do not have mutations in these genes, which suggests the involvement of other mechanisms, such as the low permeability of the mycobacterial cell wall, enzymatic modification and/or efflux pumps.

Clinical drug resistance to anti-TB drugs occurs largely as a result of the selection of resistant mutants caused by poor patient adherence to treatment, inappropriate follow-ups and prescriptions, suboptimal doses of drugs and poor access to health services and treatment. Major advances in molecular biology tools and the availability of the complete genome sequences of MTB have contributed to improve understanding of the mechanisms of resistance to the main anti-TB drugs. Better knowledge of the drug-re-

sistance of MTB will contribute to the identification of new therapeutic targets to design new drugs, develop new diagnostic tests and/or improve methods currently available for the rapid detection of drug-resistant TB. This article presents an updated review of the mechanisms and molecular basis of drug resistance in MTB.

Key Words: Drug resistance; *Mycobacterium tuberculosis*; tuberculosis; multidrug resistant (source: MeSH, NLM).

Para la revisión temática se utilizaron las bases de datos de Scopus y Pubmed. En los criterios de inclusión se consideraron los artículos científicos y de revisión que tuvieran los términos: “tuberculosis” y “*Mycobacterium tuberculosis*” relacionados con los términos “drug resistant” y “molecular mechanism”. Se realizó búsqueda booleana y se utilizaron diferentes combinaciones de términos en lenguaje controlado y natural. Se excluyeron los documentos en idioma diferente a inglés a español y no hubo restricción temporal en los resultados de la búsqueda. Se encontraron 186 documentos, de los cuales 33 son específicos a abordar el entendimiento de los mecanismos y las bases moleculares de la resistencia de MTB a medicamentos anti-TB.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró en 1993 la tuberculosis (TB) como una emergencia sanitaria mundial y es considerada como la segunda causa de muerte por enfermedad infecciosa, después del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (1,2). Según reportes de la OMS, un tercio de la población mundial está infectada con *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) y aproximadamente el 10% desarrollará la enfermedad a lo largo de su vida (3). En el año 2015, se reportaron 10,4 millones de casos incidentes y 1.4 millones de muertes a causa de esta enfermedad (4).

El esquema terapéutico en Colombia para pacientes con TB fármaco-susceptible, se basa en el tratamiento acortado directamente supervisado (DOTS/TAES) el cual incluye dos fases: una fase inicial de dos meses con los medicamentos de primera línea: isoniacida (INH), rifampicina (RIF), etambutol (EMB) y pirazinamida (PZA), seguida de una fase de tratamiento continuo de cuatro meses con INH y RIF (5). Este esquema puede alcanzar tasas de curación superiores al 90% (6). Sin embargo, la convergencia de múltiples factores como esquemas de tratamiento inapropiados, falta de supervisión en la administración de los antibióticos, dificultad de acceso a los servicios de salud y al tratamiento, se asocian con irregularidades en la toma de los medicamentos, abandonos de tratamiento y fracasos terapéuticos. La interrupción del tratamiento puede resultar en la supresión parcial del crecimiento bacteriano, generando condiciones favorables para la aparición y diseminación de casos de TB multifármaco-resistentes (TB-MDR), la cual es definida como aquella que presenta resistencia a INH y RIF (1,5–9). Los

datos de la OMS de 2014, indicaron que el 3.5% de los nuevos casos de TB y el 20.5% de casos previamente tratados tuvieron TB-MDR (4,10).

El tratamiento de la TB-MDR se basa en los llamados medicamentos de segunda línea: fluoroquinolonas (FQs), aminoglicósidos (AMGs), etionamida (ETH), D-cicloserina (DCS) y ácido p-amino salicílico (PAS). Este grupo de antibióticos produce más reacciones adversas que implican interrupciones en el tratamiento, son más costosos y pueden ser incluso menos efectivos contra MTB (6,8). Una desafortunada consecuencia en el tratamiento de TB-MDR, es que estos medicamentos también han generado resistencia (11), conllevando a la aparición de casos de TB con resistencia extendida (TB-XDR), un término definido en el 2006 como aquellos casos de TB que son resistentes a INH y RIF, a una FQ y un AMG inyectable (12). Para el año 2013, la OMS reportó que la proporción de casos de TB-MDR con TB-XDR fue 9%. (4,10).

En Colombia en el 2014, se notificaron 12 415 casos de TB donde la incidencia fue de 26 casos por 100 000 habitantes (13). La última encuesta nacional de TB-MDR realizada en el año 2005 reportó una incidencia de 2.38% para casos nuevos y 31.44% para casos previamente tratados. Entre los grupos más afectados para la TB-MDR están los co-infectados con VIH y los privados de la libertad en donde la incidencia llega al 5,6%. También se han reportado casos de TB-XDR, los cuales a finales del 2012 sumaban ya 32 casos. (14-16).

La circulación de aislamientos de MTB-MDR/XDR se convierte en una situación preocupante, debido a la complejidad para hacer los diagnósticos oportunos, por los riesgos de transmisión, lo complejo y prolongado del tratamiento y el impacto económico que puede tener esta enfermedad en el sistema de salud de un país (17–19). Con el objetivo de mejorar el entendimiento sobre los mecanismos de resistencia utilizados M. tuberculosis presentamos la siguiente revisión de tema.

Mecanismos de resistencia a medicamentos anti-tuberculosos en *Mycobacterium tuberculosis*

Varios factores que promueven la resistencia antimicrobiana (RAM) podrían estar implicados en el aumento de los casos de TB-MDR/XDR en diversas regiones del mundo. Dentro de las propiedades de las micobacterias, se incluyen factores que se han relacionado con resisten-

cia constitutiva y resistencia adquirida a medicamentos anti-TB (20–22).

Fármaco-resistencia constitutiva

La resistencia constitutiva o intrínseca, se define como la fármaco-resistencia de cualquier especie bacteriana que no ha sido adquirida como resultado de la exposición a antibióticos (20).

Permeabilidad reducida de la pared celular micobacteriana

La resistencia intrínseca en MTB se ha atribuido al hecho de poseer una pared celular compleja constituida por una gran cantidad de lípidos, proteínas y polisacáridos que le confieren una característica hidrófoba con permeabilidad celular restringida para un gran número de compuestos antibacterianos (23–25). Las capas de péptidoglicano y arabinogalactano limitan la entrada de moléculas hidrófobas, mientras que la capa de ácidos micólicos limita el acceso de ambas moléculas (26). Antibióticos hidrofóbicos pueden ingresar a la célula por difusión a través de la bicapa hidrofóbica, mientras que los antibióticos hidrofílicos que no se pueden difundir a través de la pared celular utilizan canales como las porinas (27). Hasta la fecha, las porinas MspA y OmpATb han sido identificadas y caracterizadas en *M. smegmatis* y MTB, respectivamente (27), aunque no es claro cuál es el papel que desempeñan estas proteínas en la fármaco-resistencia de micobacterias, específicamente en MTB.

Modificación y degradación enzimática de medicamentos

La producción de enzimas es quizá un mecanismo de respuesta bacteriana a los antibióticos, ya que estas utilizan una serie de estrategias para superar las propiedades tóxicas de los antibióticos. Un ejemplo de esto, es la modificación de medicamentos a través de kinasas, acetiltransferasas, adeniltransferasas, glicosiltransferasas y ADP-ribosiltransferasas (28). En MTB, la modificación enzimática de medicamentos se debe principalmente a la metilación del ARNr. Por ejemplo, la resistencia intrínseca de MTB a los macrólidos y lincosamidas, se debe al gen *erm37*, el cual codifica una metiltransferasa ARNr (29). Esta enzima altera las estructuras de los ribosomas de MTB a través de la metilación del 23S ARNr reduciendo la afinidad de los macrólidos y lincosamidas a los ribosomas e impidiendo su actividad inhibitoria en la síntesis de proteínas (30). Otro ejemplo es la metilación del ARNr que genera resistencia a capreomicina (CAP) y viomicina, dos medicamentos utilizados para tratar la TB-MDR. La CAP interactúa con las hélices 69 y 44 de las proteínas

ribosomales 16S y 23S rRNAs respectivamente, resultando en la inhibición de la síntesis de proteínas (31). Estudios genéticos, han sugerido que la resistencia a estos dos medicamentos se debe a mutaciones en el gen *tlyA*, el cual codifica para una metiltransferasa (2'-O-metiltransferasa) (32). El gen *tlyA* metila los nucleótidos C1409 en la hélice 44 de la proteína 16S ARNr y C1920 en la hélice 69 de la proteína 23S ARNr. La pérdida de estas metilaciones confiere resistencia a CAP y viomicina (33). La degradación enzimática de medicamentos, es un mecanismo que se ha estudiado principalmente en los β -lactámicos. Las β -lactamasas, hidrolizan el anillo β -lactámico proporcionando resistencia a este grupo de medicamentos (34). La β -lactamasa más importante en MTB es la BlaC (35,36), la cual tiene actividad contra los carbapenémicos, que son generalmente resistentes a las β -lactamasas de otras bacterias. Adicionalmente, MTB codifica otros tres genes con función β -lactamasa: *blaS*, *rvo406c* y *rv3677c*, los cuales han mostrado menor actividad que BlaC (37).

Bombas de eflujo como mecanismo de resistencia a medicamentos anti-TB

Las bombas de eflujo, son proteínas transportadoras localizadas en la membrana citoplasmática de todos los tipos de células y actúan como transportadores activos, ya que requieren una fuente de energía para realizar su función. En sistemas de eflujo bacterianos, probablemente su papel fisiológico, es proteger a la célula contra moléculas tóxicas, incluyendo antibióticos clínicamente importantes, al transportarlos una vez que ingresan a la célula bacteriana hacia el ambiente extracelular (38,39). Esta característica reduce la concentración intracelular de los antibióticos a niveles sub-inhibitorios y de esta manera se piensa que promueven la emergencia de fármaco-resistencia (40,41). Genes que codifican bombas de eflujo están constitutivamente expresados en células wild-type; por lo que se ha sugerido que dichos sistemas confieren resistencia de bajo nivel a múltiples medicamentos, sus actividades brindan una mejor tolerancia a los medicamentos y potencian la adquisición y acumulación de mutaciones cromosomales que confieren altos niveles de resistencia (39,42). Se ha observado que de los aislamientos de MTB resistentes a medicamentos anti-TB, entre un 20-30% de los resistentes a INH, aproximadamente el 5% con resistencia a RIF y alrededor de un 15-58% de aquellos resistentes a FQs no presentan alteraciones genéticas asociadas con dicha fármaco-resistencia (11,43–45), lo que sugiere que otros mecanismos pueden contribuir a la fármaco-resistencia en MTB, dentro de los cuales se incluyen las bombas de eflujo.

Basado en perfiles estructurales y bioenergéticos, las bombas de eflujo se clasifican en dos grupos: (i) trans-

portadores primarios, a los cuales pertenece la familia de casete de unión a ATP (ABC) y utilizan la energía libre de la hidrólisis de ATP (46); y (ii) transportadores secundarios, que se caracterizan por utilizar el gradiente de protones o iones de sodio como fuente de energía (39,41) y se dividen en 4 familias: Superfamilia de Máximo Facilitador (MFS), Familia Multi-fármaco Resistencia Pequeña (SMR), Resistencia a División por Nodulación (RND) y Familia de Expulsión de Compuestos Tóxicos y multi-fármacos (MATE) (39,41,47) (Tabla 1).

Fármaco-resistencia adquirida

En bacterias, la resistencia genética generalmente es mediada a través de la adquisición de genes exógenos a través de plásmidos, transposones, integrones y bacteriófagos (21). Sin embargo, en MTB no se han reportado mecanismos de adquisición de genes de resistencia por dichos elementos. Por lo tanto, la resistencia a medicamentos anti-TB se debe principalmente a alteraciones en genes que codifican blanco de antibióticos, en productos

genéticos involucrados en la activación de pro-fármacos o regiones reguladoras (9,11,48). No obstante, no se conoce una alteración genética que por sí misma, dé lugar al fenotipo de TB-MDR/XDR. Sin embargo, numerosos estudios se han realizado para describir los mecanismos genéticos de resistencia en MTB, en los cuales se ha observado que la acumulación de mutaciones en diferentes loci de genes específicos dan origen a los fenotipos resistentes MDR y XDR (Tabla 2) (9,11,49). La transmisión y adquisición de fármaco-resistencia puede depender del linaje genético. Se ha sugerido, que diferentes linajes pueden compensar el "costo del fitness" de la resistencia adquirida, lo cual contribuye a mejorar la transmisión de aislamientos fármaco-resistentes o en otros casos llevando a la rápida aparición de fármaco-resistencia durante el tratamiento anti-TB debido a mayores tasas de mutación (50,51). Esta observación, es apoyada por el hecho de que en aquellas zonas con mayor proporción de aislamientos de MTB-MDR se han asociado con aislamientos que pertenecen al linaje Beijing (52,53).

Tabla 1. Transportadores involucrados con fármaco-resistencia en *Mycobacterium tuberculosis*

Descripción del gen	N° H37Rv	Familia del Transportador	Posible medicamento expulsado
Multidrug-efflux transporter Tap	Rv1258c	MFS	INH, RIF, EMB, OFL
Multidrug-efflux transporte	Rv1634	MFS	FQ
MFS-type transporter	Rv2846c-efpA	MFS	INH-ETH
MFS-type transporter	Rv2459	MFS	INH, EMB
Aminoglycosides/tetracycline-transport integral membrane protein	Rv1410c-P55	MFS	TET, RIF, aminoglicósidos
Multidrug resistance protein Mmr	Rv3065-Mmr	SMR	ER, THZ
Transmembrane transport protein	Rv2942 MmpL7	RND	INH
Daunorubicin ABC transporter ATP-binding protein DrrA	Rv2936-drrA	ABC	EMB, FQ, STR, INH, RIF
Daunorubicin ABC transporter permease DrrB	Rv2937-drrB	ABC	EMB, FQ, STR, INH, RIF
Daunorubicin ABC transporter permease DrrC	Rv2938-drrC	ABC	EMB, FQs, STR,

Descripción del gen	N° H37Rv	N° CDC1551 a	Familia del Transportador	Posible medicamento expulsado
Tetronasin-transport integral membrane protein ABC transporte	Rv1217c	Mt1255	ABC	INH, RIF
tetronasin-transport ATP-binding protein ABC transporte	Rv1218c	Mt1256	ABC	INH, RIF
Antibiotic ABC transporter permease	Rv1456c	Mt1503	ABC	RIF, INH, EMB, STR
Antibiotic ABC transporter permease	Rv1457c	Mt1504	ABC	RIF, INH, EMB, STR
Antibiotic-transport ATP-binding protein ABC transporter	Rv1458c	Mt1505	ABC	RIF, INH, EMB, STR
Antibiotic ABC transporter permease	Rv2686c	Mt2790	ABC	FQ
Antibiotic ABC transporter permease	Rv2687c	Mt2761	ABC	FQ
Antibiotic ABC transporter ATP-binding protein	Rv2688c	Mt2762	ABC	FQ, RIF, STR

ABC, Casete de unión a ATP; MFS, Superfamilia de Máximo Facilitador; SMR, Familia Multi-fármaco Resistencia Pequeña; RND, Resistencia a División por Nodulación; FQ, fluoroquinolona; RIF, rifampicina; STR, estreptomina; EMB, etambutol; OFL, ofloxacina; KAN, kanamicina; TET, tetraciclina; ER, eritromicina; THZ, thioridazina; AMP, ampicilina; CLO, cloranfenicol; NOV, novobiacina ND, no determinado; ATP, trifosfato de adenosina; PMF, fuerza motriz de protones. *Genes evaluados en este estudio. a Se determinó el N° del gen al que corresponde en la cepa de referencia CDC1551, sólo para los genes que codifican bombas de eflujo tipo ABC, ya que son los genes de interés en este estudio.

Tabla 2. Genes asociados con resistencia a medicamentos anti-tuberculosos

Antibiótico	Gen	Mecanismo de acción	Mecanismo de resistencia	Frecuencia mutaciones
isoniazida	katG	Codifica para la enzima catalasa-peroxidasa: transforma la INH en el principio activo, inhibiendo la síntesis del ácido micólico	Mutaciones en este gen impiden la activación de la isoniacida	30–60%
	inhA	Codifica la síntesis de la proteína enoil ACP reductasa, implicada en la producción de ácidos grasos de la micobacteria	Mutaciones, inducen sobre-expresión del gen sintetizando altos niveles de la enzima enoil reductasa en cantidades que superan el poder inhibitorio de INH	20–35%
rifampicina	rpoB	Codifica para la subunidad β de la RNA polimerasa, a la cual se une la rifampicina, interfiriendo en la síntesis del ácido nucleico en el proceso de replicación bacteriana	Mutaciones, impiden la interacción de la RIF con la ARN polimerasa.	96-98%
Fluoroquinolonas	gyrA/ gyrB	Inhiben la actividad de la ADN girasa.	Referirse al punto 1.6.2.1	42-85%
kanamicina/ amikacina	rpsL/ rrs	Impiden la síntesis de proteínas en el ribosoma bacteriano (inhiben la traducción del ARNm. El sitio de acción es la subunidad pequeña del ribosoma 30S (rpsL) y el ARNr 16S (rrs)	Mutaciones en estos genes producen una disminución de la unión de los medicamentos a la unidad ribosomal	> 60%

A continuación, se explicarán brevemente los mecanismos genéticos conocidos que confieren resistencia a los principales medicamentos anti-TB (INH, RIF, FQS y AMG).

Resistencia a isoniacida

La INH es un profármaco que es activado por la enzima catalasa-peroxidasa (KatG), la cual es codificada por el gen katG para generar una gran variedad de especies reactivas las cuales atacarán múltiples blancos en MTB (54–56). Aunque el mecanismo de acción de la INH así como los mecanismos que confieren resistencia son complejos ya que se ven involucrados varios blancos en la micobacteria, se cree que el principal blanco de este medicamento es la enzima enoil-ACP reductasa (INH), la cual está involucrada en la elongación de los ácidos grasos de cadena larga y la síntesis de ácidos micólicos (57). Las especies reactivas producidas como consecuencia de la acción del katG sobre INH, reaccionan con el NAD(H) para formar el aducto INH-NAD, el cual detiene la actividad de la enzima INH (58). Mutaciones en varios genes, incluyendo katG, ahpC, inhA, kasA y ndh se han asociado con resistencia a INH (59–61). Sin embargo, dos mecanismos moleculares han mostrado ser la principal causa de resistencia a este medicamento: mutaciones en los genes katG, inhA y su región promotora.

Resistencia a rifampicina

Debido a su eficiente acción antimicrobiana, la RIF junto con la INH, es considerada el núcleo del tratamiento acordado debido a su alta acción bactericida (62). La resistencia a RIF aparece después de la resistencia a otros medicamentos anti-TB, y es por esto que se ha convertido

en un marcador de TB-MDR (63). El mecanismo de acción de la RIF es INHIBIR la subunidad β de la enzima ARN polimerasa (codificada por el gen rpoB), impidiendo que esta enzima se una al ADN, bloqueando el inicio de la transcripción del ARN (64).

Resistencia a fluoroquinolonas

La actividad de las FQS contra MTB, su buena distribución tisular y celular, así como los bajos efectos adversos hacen que las FQS sean utilizadas para el tratamiento de aislamientos de MTB-MDR, el tratamiento empírico en comunidades con una alta tasa de MDR o el tratamiento de pacientes con reacciones adversas a los medicamentos de primera línea (6, 65 - 67).

Las FQS tienen como blanco las topoisomerasas bacterianas II y IV (67,68). En las células, su función específica es catalizar la relajación y el súper enrollamiento del ADN (80). MTB carece de la topoisomerasa IV e incluye sólo la topoisomerasa II o ADN girasa, un tetrámero que consiste en dos subunidades A y dos subunidades B, codificadas por los genes gyrA y gyrB respectivamente (11,69).

Resistencia a aminoglucósidos

Dentro del grupo de los AMG, la amikacina (AMK) y la kanamicina (KAN) son los medicamentos inyectables de segunda línea más usados para el tratamiento de la TB-MDR. Se ha sugerido, que la resistencia a KAN, es una de las características que define la presencia de aislamientos de MTB-XDR (70). El mecanismo de acción de los AMG es INHIBIR la síntesis de proteínas al actuar sobre la subunidad pequeña 30S del ribosoma, específicamente en las proteínas ribosomales S12 y 16S ARNr codificadas por los

genes *rpsL* y *rrs*, respectivamente. La unión al ribosoma interfiere con la elongación de la cadena peptídica causando lecturas incorrectas del código genético generando proteínas anómalas (71).

La resistencia fenotípica de alto nivel a los AMGs (MIC > 80 µg/ml) se ha asociado principalmente a mutaciones en la región de 1.400-bp del *rrs* (72). La mutación A1401G es la alteración más reportada, se ha identificado entre el 30-90% de los aislamientos de MTB resistentes a KAN y se ha asociado con resistencia cruzada a la AMK y CAP (73,75) ♦

REFERENCIAS

- Chiang C-Y, Centis R, Migliori GB. Drug-resistant tuberculosis: past, present, future. *Respirol Carlton Vic.* 2010 Apr;15(3):413–32.
- Frieden TR, Sterling TR, Munsiff SS, Watt CJ, Dye C. Tuberculosis. *Lancet.* 2003 Sep 13;362(9387):887–99.
- World Health Organization. Global tuberculosis control 2008: surveillance, planning, financing. Geneva: WHO; 2008.
- World Health Organization: Global tuberculosis report 2016. Geneva: WHO; 2016.
- Organización Panamericana de la Salud, Instituto Nacional de Salud, Ministerio de la Protección Social (Colombia). Esquemas de tratamiento para tuberculosis en Colombia. Bogotá: OPS; 2007.
- World Health Organization. Treatment of tuberculosis: guidelines. 4. ed. Geneva, Switzerland: WHO; 2009.
- Wade MM, Zhang Y. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Front Biosci J Virtual Libr.* 2004 Jan 1;9:975–94.
- Dorman SE, Chaisson RE. From magic bullets back to the magic mountain: the rise of extensively drug-resistant tuberculosis. *Nat Med.* 2007 Mar;13(3):295–8.
- Iseman MD. Evolution of drug-resistant tuberculosis: a tale of two species. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994 Mar 29;91(7):2428–9.
- World Health Organization. Drug-Resistant TB Surveillance & Response. WHO/HQ/TB/2014.
- Malik S, Willby M, Sikes D, Tsodikov OV, Posey JE. New insights into fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: functional genetic analysis of *gyrA* and *gyrB* mutations. *PloS One.* 2012;7(6):e39754.
- World Health Organization. Anti-tuberculosis Drug resistance in the world report 4. Geneva: WHO; 2008.
- Instituto Nacional de Salud. Subdirección de Vigilancia y Control de Salud Pública. Cumplimiento en la notificación, semana epidemiológica 52. *Boletín Epidemiológico Semanal.* 2014 Dic 21-27(52):1-28.
- Gomez IT, Llerena CR, Zabaleta AP. Tuberculosis y tuberculosis farmacorresistente en personas privadas de la libertad. Colombia, 2010-2012. *Rev. Salud Pública.* 17(1): 97-105, 2015
- Garzón MC, Angée DY, Llerena C, Orjuela DL, Victoria JE. Vigilancia de la resistencia del *Mycobacterium tuberculosis* a los fármacos antituberculosos, Colombia 2004-2005. *Biomédica.* 2008 Sep 1;28(3):319–26.
- Instituto Nacional de Salud. Protocolo de vigilancia en salud pública: Tuberculosis farmacorresistente. Colombia. INS; 2014.
- Brudney K, Dobkin J. Resurgent tuberculosis in New York City. Human immunodeficiency virus, homelessness, and the decline of tuberculosis control programs. *Am Rev Respir Dis.* 1991 Oct;144(4):745–9.
- Palomino JC. Nonconventional and new methods in the diagnosis of tuberculosis: feasibility and applicability in the field. *Eur Respir J.* 2005 Aug; 26(2):339–50.
- Hernández Sarmiento JM, Martínez Negrete MA, Castrillon Velilla Diana M, Mejía Espinosa Sergio A, Mejía Mesa GI, Zapate Fernández EM. et al. Agar de capa delgada: Una opción costo-efectiva para el diagnóstico rápido de tuberculosis multirresistente. *Rev. Salud Pública.* (Bogotá). 2014; 16(1):101-113.
- Fajardo A, Martínez-Martín N, Mercadillo M, Galán JC, Ghysels B, Matthijs S, et al. The neglected intrinsic resistome of bacterial pathogens. *PloS One.* 2008; 3(2):e1619.
- Giedraitienė A, Vitkauskienė A, Naginienė R, Pavilonis A. Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Med Kaunas Lith.* 2011; 47(3):137-46.
- Jalal KCA, Akbar B, Kamaruzzaman BY, Kathires K. Emergence of Antibiotic Resistant Bacteria from Coastal Environment - A Review. In: Pana M, editor. *Antibiotic Resistant Bacteria - A Continuous Challenge in the New Millennium* [Internet]. Hampshire, England: InTech; 2012 [cited 2014 Jun 23]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/howtoreference/antibiotic-resistant-bacteria-a-continuous-challenge-in-the-new-millennium/emergence-of-antibiotic-resistant-bacteria-from-coastal-environment-a-review>.
- Jarlier V, Nikaido H. Mycobacterial cell wall: structure and role in natural resistance to antibiotics. *FEMS Microbiol Lett.* 1994 Oct 15; 123(1-2):11–8.
- Nguyen L, Thompson CJ. Foundations of antibiotic resistance in bacterial physiology: the mycobacterial paradigm. *Trends Microbiol.* 2006 Jul; 14(7):304–12.
- Niederweis M, Danilchanka O, Huff J, Hoffmann C, Engelhardt H. Mycobacterial outer membranes: in search of proteins. *Trends Microbiol.* 2010 Mar; 18(3):109–16.
- Brennan PJ, Nikaido H. The envelope of mycobacteria. *Annu Rev Biochem.* 1995; 64:29–63.
- Niederweis M. Mycobacterial porins--new channel proteins in unique outer membranes. *Mol Microbiol.* 2003 Sep; 49(5):1167–77.
- Wright GD. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005 Jul 29; 57(10):1451–70.
- Buriánková K, Doucet-Populaire F, Dorson O, Gondran A, Ghnassia J-C, Weiser J, et al. Molecular basis of intrinsic macrolide resistance in the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Jan; 48(1):143–50.
- Madsen CT, Jakobsen L, Buriánková K, Doucet-Populaire F, Pernodet J-L, Douthwaite S. Methyltransferase Erm(37) slips on rRNA to confer atypical resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Biol Chem.* 2005 Nov 25; 280(47):38942–7.
- Akbergenov R, Shcherbakov D, Matt T, Duscha S, Meyer M, Wilson DN, et al. Molecular basis for the selectivity of antituberculosis compounds capreomycin and viomycin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Oct;55(10):4712–7.
- Maus CE, Plikaytis BB, Shinnick TM. Mutation of *tlyA* confers capreomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 Feb; 49(2):571–7.
- Johansen SK, Maus CE, Plikaytis BB, Douthwaite S. Capreomycin binds across the ribosomal subunit interface using *tlyA*-encoded 2'-O-methylations in 16S and 23S rRNAs. *Mol Cell.* 2006 Jul 21;23(2):173–82.
- Chambers HF, Moreau D, Yajko D, Miick C, Wagner C, Hackbarth C, et al. Can penicillins and other beta-lactam antibiotics be used to treat tuberculosis? *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Dec;39(12):2620–4.
- Voladri RK, Lakey DL, Hennigan SH, Menzies BE, Edwards KM, Kernodle DS. Recombinant expression and characterization of the major beta-lactamase of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998 Jun;42(6):1375–81.
- Wang F, Cassidy C, Sacchetti JC. Crystal structure and activity studies of the *Mycobacterium tuberculosis* beta-lactamase reveal its critical role in resistance to beta-lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006 Aug;50(8):2762–71.
- Flores AR, Parsons LM, Pavelka MS. Genetic analysis of the beta-lactamases of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium smegmatis* and susceptibility to beta-lactam antibiotics. *Microbiol Read Engl.* 2005 Feb;151(Pt 2):521–32.
- Louw GE, Warren RM, Gey van Pittius NC, McEvoy CRE, Van Helden PD, Victor TC. A balancing act: efflux/influx in mycobacterial drug resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Aug;53(8):3181–9.

39. Piddock LJV. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2006 Apr; 19(2):382–402.
40. Kumar A, Schweizer HP. Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005 Jul 29;57(10):1486–513.
41. Marquez B. Bacterial efflux systems and efflux pumps inhibitors. *Biochimie.* 2005 Dec; 87(12):1137–47.
42. Gupta AK, Katoch VM, Chauhan DS, Sharma R, Singh M, Venkatesan K, et al. Microarray analysis of efflux pump genes in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* during stress induced by common anti-tuberculous drugs. *Microb Drug Resist Larchmt N.* 2010 Mar;16(1):21–8.
43. Ramaswamy S, Musser JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update. *Tuber Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis.* 1998; 79(1):3–29.
44. Ramaswamy SV, Reich R, Dou S-J, Jasperse L, Pan X, Wanger A, et al. Single nucleotide polymorphisms in genes associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003 Apr; 47(4):1241–50.
45. Telenti A, Imboden P, Marchesi F, Lowrie D, Cole S, Colston MJ, et al. Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Lancet.* 1993 Mar 13; 341(8846):647–50.
46. Rees DC, Johnson E, Lewinson O. ABC transporters: the power to change. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009 Mar; 10(3):218–27.
47. Nikaido H, Zgurskaya HI. Antibiotic efflux mechanisms. *Curr Opin Infect Dis.* 1999 Dec; 12(6):529–36.
48. Müller B, Borrell S, Rose G, Gagneux S. The heterogeneous evolution of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Genet TIG.* 2013 Mar; 29(3):160–9.
49. Araya P, Velasco M, Tognarelli J, Arias F, Leiva T, Scapatticio A, et al. [Detection of genes associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Chile]. *Rev Médica Chile.* 2011 Apr; 139(4):467–73.
50. Borrell S, Gagneux S. Infectiousness, reproductive fitness and evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis.* 2009 Dec; 13(12):1456–66.
51. De Steenwinkel JEM, ten Kate MT, de Knecht GJ, Kremer K, Aarnoutse RE, Boeree MJ, et al. Drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and association with MDR TB. *Emerg Infect Dis.* 2012 Apr; 18(4):660–3.
52. Baranov AA, Mariandyshev AO, Mannsáker T, Dahle UR, Bjune GA. Molecular epidemiology and drug resistance of widespread genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in northwestern Russia. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis.* 2009 Oct; 13(10):1288–93.
53. Kubica T, Agzamova R, Wright A, Aziz MA, Rakishev G, Bismilda V, et al. The Beijing genotype is a major cause of drug-resistant tuberculosis in Kazakhstan. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis.* 2005 Jun; 9(6):646–53.
54. Acevedo GA, Vega A, Ribón W. Tuberculosis Multidrogoresistente. *rev.univ.ind.santander.salud.* 2013 Sep; 45(3):87–92.
55. Shoeb HA, Bowman BU, Ottolenghi AC, Merola AJ. Peroxidase-mediated oxidation of isoniazid. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985 Mar; 27(3):399–403.
56. Youatt J. A review of the action of isoniazid. *Am Rev Respir Dis.* 1969 May; 99(5):729–49.
57. Banerjee A, Dubnau E, Quemard A, Balasubramanian V, Um KS, Wilson T, et al. *inhA*, a gene encoding a target for isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science.* 1994 Jan 14; 263(5144):227–30.
58. Rawat R, Whitty A, Tonge PJ. The isoniazid-NAD adduct is a slow, tight-binding inhibitor of *InhA*, the *Mycobacterium tuberculosis* enoyl reductase: adduct affinity and drug resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Nov 25; 100(24):13881–6.
59. Heym B, Stavropoulos E, Honoré N, Domenech P, Saint-Joanis B, Wilson TM, et al. Effects of overexpression of the alkyl hydroperoxide reductase *AhpC* on the virulence and isoniazid resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 1997 Apr; 65(4):1395–401.
60. Lee AS, Teo AS, Wong SY. Novel mutations in *ndh* in isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 Jul; 45(7):2157–9.
61. Slayden RA, Barry CE. The role of *KasA* and *KasB* in the biosynthesis of meromycolic acids and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberc Edinb Scotl.* 2002; 82(4-5):149–60.
62. Hazbón MH, Brimacombe M, Bobadilla del Valle M, Cavatore M, Guerrero MI, Varma-Basil M, et al. Population genetics study of isoniazid resistance mutations and evolution of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006 Aug; 50(8):2640–9.
63. Varedzlis BP, Grosset J, de Kantor I, Crofton J, Laszlo A, Felten M, et al. Drug-resistant tuberculosis: laboratory issues. World Health Organization recommendations. *Tuber Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis.* 1994 Feb; 75(1):1–7.
64. Campbell EA, Korzhveva N, Mustaev A, Murakami K, Nair S, Goldfarb A, et al. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial *ma* polymerase. *Cell.* 2001 Mar 23; 104(6):901–12.
65. Iseman MD. Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med.* 1993 Sep 9; 329(11):784–91.
66. Berning SE. The role of fluoroquinolones in tuberculosis today. *Drugs.* 2001; 61(1):9–18.
67. Blumberg HM, Burman WJ, Chaisson RE, Daley CL, Etkind SC, Friedman LN, et al. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America: treatment of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Feb 15; 167(4):603–62.
68. Hawkey PM. Mechanisms of quinolone action and microbial response. *J Antimicrob Chemother.* 2003 May;51 Suppl 1:29–35.
69. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature.* 1998 Jun 11; 393(6685):537–44.
70. World Health Organization. Global tuberculosis control-epidemiology, strategy, financing. World Report. Geneva, Switzerland: WHO; 2009.
71. Almeida Da Silva PEA, Palomino JC. Molecular basis and mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: classical and new drugs. *J Antimicrob Chemother.* 2011 Jul; 66(7):1417–30.
72. Alangaden GJ, Kreiswirth BN, Aouad A, Khetarpal M, Igno FR, Moghazeh SL, et al. Mechanism of resistance to amikacin and kanamycin in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998 May; 42(5):1295–7.
73. Maus CE, Plikaytis BB, Shinnick TM. Molecular analysis of cross-resistance to capreomycin, kanamycin, amikacin, and viomycin in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 Aug; 49(8):3192–7.
74. Via LE, Cho S-N, Hwang S, Bang H, Park SK, Kang HS, et al. Polymorphisms associated with resistance and cross-resistance to aminoglycosides and capreomycin in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from South Korean Patients with drug-resistant tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 2010 Feb; 48(2):402–11.
75. Musser JM. Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights. *Clin Microbiol Rev.* 1995 Oct; 8(4):496–514.