

La tuberculosis multirresistente: novedades en el tratamiento de una epidemia global que pone en riesgo la salud pública

Carlos Campayo Escolano¹, Javier Solera^{1,2}.

¹Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete.

²Facultad de Medicina de Albacete. Universidad de Castilla-La Mancha.

Presentación

La tuberculosis es una epidemia global reconocida por la OMS como un problema prioritario de salud pública que mata cada año a 1.3 millones de personas, siendo 170.000 producidas por la tuberculosis multirresistente; la erradicación de estas variantes resistentes supone un reto para los investigadores que deben desarrollar nuevos fármacos y esquemas de tratamiento, así como para los clínicos que deben aplicar estas pautas de forma sencilla y eficaz para asegurar el cumplimiento terapéutico y evitar la aparición de nuevas resistencias.

Resumen

La tuberculosis es una epidemia global, que fue reconocida por la OMS en 2006 como un problema prioritario de salud pública. Se estima que 10 millones de personas están infectadas, causando 1.3 millones de muertes cada año. El tratamiento de la tuberculosis es complejo debido a las características del microorganismo, necesitando múltiples fármacos administrados durante largos periodos de tiempos, y es aún más complicado dada la aparición de variantes resistentes a estos fármacos. Dadas las resistencias a fármacos de primera línea, los regímenes de tratamiento se vuelven mucho más complicados y largos, haciendo que los tratamientos fracasen por toxicidad o por abandono del mismo. La aparición y progresión de las cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis* dependen en gran medida de la selección genética de mutantes, que se produce bajo la presión selectiva causada por la antibioterapia utilizada. La virulencia de MT, los factores genéticos de huésped, la coinfección por el VIH y la presencia de tratamientos incompletos son factores que contribuyen a la aparición de variantes resistentes. En los últimos años se han desarrollado múltiples antituberculosos y con ellos, nuevos esquemas de tratamiento que nos permiten hacer frente de manera más efectiva a las cepas resistentes.

Palabras clave

Mycobacterium tuberculosis, resistencias, MDR-TB, TDR-TB, XDR-TB, tuberculosis.

Conflicto de intereses

Este artículo no presenta conflicto de interés.

Summary

Tuberculosis is a global epidemic recognised by de WHO in 2006 as a matter of high priority. It is estimated that 10 million people are infected and that tuberculosis kills 1.3 million people every year. Tuberculosis treatment complex because of the characteristics of the bacilli, with multiple drugs needed to be used in long-term regimens, and becomes even more complicated due to the rise of resistant strains. These treatments are even more complex with many drugs involved, causing high toxicity and leading to the failure of the treatment, with even more resistant strains developing. In the last years newer drugs are being developed, with shorter and safer treatment schemes that improve outcomes.

Key words

Mycobacterium tuberculosis, drug resistance, MDR-TB, TDR-TB, XDR-TB, tuberculosis.

Conflict of interests

This article does not present a conflict of interest.

¿Por qué la tuberculosis es actualmente un tema de relevancia y cuál es la importancia de la patogenia de *Mycobacterium tuberculosis*?

La tuberculosis (TBC) es una enfermedad infecciosa transmitida por vía aérea causada por *Mycobacterium tuberculosis* (MT), también conocido como el bacilo de Koch en honor a su descubridor. Se trata de una enfermedad potencialmente mortal que ha infectado a la humanidad desde hace miles de años y que ha causado una gran amenaza a la salud pública dada su morbilidad y mortalidad. El brote global ocurrido en 1993 gracias a la aparición del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) unos años antes, llevó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a anunciar la TBC como un problema de gran prioridad (Sharma et al., 2006). Se calcula que cerca del 25% de la población mundial podría estar infectada, siendo actualmente la enfermedad infecciosa con mayor mortalidad ocasionada por un solo patógeno. En el año 2017 la OMS estimó que alrededor de 10 millones de personas estaban infectadas y que 6.4 millones habían sido diagnosticados recientemente, causando 1.3 millones de muertes cada año (Furin et al., 2019).

Las especies integradas en *Mycobacterium tuberculosis complex* incluyen diversos bacilos alcohol resistentes, aerobios estrictos, no esporulados, inmóviles y no productores de toxinas. En su estructura presenta gran cantidad de lípidos, ácidos micólicos que constituyen la base del fenómeno de ácido alcohol resistencia y un factor de virulencia denominado cord factor. Las especies más importantes en la clínica humana son *Mycobacterium tuberculosis* (MT), implicado en la inmensa mayoría de los casos enfermedad tuberculosa, y *Mycobacterium bovis*, responsable de algunos casos de tuberculosis intestinal contraída tras la ingesta de productos lácteos no pasteurizados. El bacilo de Calmette- Guérin (BCG) es un derivado atenuado de *M bovis*. *Mycobacterium africanum* y *Mycobacterium microti* pueden producir patología de forma más excepcional (Agyeman et al., 2017).

En la historia natural tuberculosis se distinguen tres situaciones condicionadas por las diversas formas de relación entre MT y el huésped:

La exposición a MT se produce tras su diseminación mediante partículas de aerosol liberadas con la tos por un paciente que sea bacilífero. Una vez inhaladas por parte de un individuo susceptible estas partículas son capaces de escapar a los mecanismos de aclaramiento mucociliar gracias a su pequeño tamaño, por lo que alcanzan el espacio alveolar donde la micobacteria inicia una replica-

ción lenta (de 14 a 21 días). Para que esto suceda el contacto con el sujeto bacilífero debe haber sido íntimo y prolongado. En el mejor de los posibles escenarios los macrófagos alveolares, que forman parte de la inmunidad innata o específica, destruyen al bacilo en el interior de sus fagolisosomas sin intervención de los linfocitos T y evitando que llegue a producirse la infección. Se estima que este desenlace favorable ocurre en más de la mitad de los sujetos expuestos al bacilo tuberculoso (Malik et al., 2000).

La infección por MT tiene lugar cuando los macrófagos alveolares no son capaces de contener y eliminar al bacilo en su primer contacto con el mismo, de este modo comienza su replicación en el interior de los propios macrófagos alveolares, con la posterior diseminación regional a través de los vasos linfáticos hasta alcanzar los ganglios del hilio pulmonar. La expresión radiológica de este proceso origina el denominado complejo primario de Ghon, constituido por neumonitis, linfangitis y adenitis. Una vez alcanzado el drenaje linfático, el bacilo llega a la sangre, diseminándose por vía hematogena al resto de órganos. Esta diseminación hematogena suele ser silente desde un punto de vista clínico y origina activación de una segunda línea de defensa constituida por la inmunidad adaptativa o específica, fundamentalmente mediada por linfocitos T CD4 activados. Estos linfocitos adquieren una polarización Th1, migran hasta los tejidos donde se ha asentado el bacilo y liberan diversas citocinas, entre las que destaca el interferón gamma, que favorecen a su vez, la migración de los macrófagos y su transformación en células epitelioides y gigantes y multinucleadas. Finalmente, este proceso da lugar a la formación de granulomas que, en esencia, permiten mantener contenido en fase de latencia al bacilo gracias al desarrollo de una reacción de hipersensibilidad celular o de tipo IV. Si bien la micobacteria puede sobrevivir en el interior del granuloma y de los macrófagos que lo integran, su crecimiento y actividad metabólica se ven inhibidos por las condiciones de baja tensión de oxígeno y pH ácido, permaneciendo así en estado latente durante meses años o, en la mayor parte de los casos (90%), toda la vida del sujeto (Armstrong et al., 1975).

La enfermedad por MT o tuberculosis activa tiene lugar cuando los bacilos que permanecen latentes en el interior de los granulomas se reactivan, coincidiendo normalmente con una disminución de las defensas inmunológicas. Está reactivación puede tener lugar en órganos distintos del pulmón, denominándose formas extrapulmonares, y si la disminución de defensas es grave producir una infección generalizada denominada tuberculosis miliar. La infección por VIH constituye actualmente el principal

factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad tuberculosa y, a su vez, la tuberculosis supone la enfermedad definitoria de SIDA (estadio C de la clasificación de los CDC) más frecuente en nuestro medio. Aunque la reactivación pueda tener lugar al cabo de décadas, como en sujetos de edad avanzada que se infectaron en la juventud, conviene recordar que la mayoría de los casos de enfermedad tuberculosa ocurren a lo largo de los dos primeros años siguientes a la primoinfección, por este motivo los conversores recientes tienen un riesgo especialmente elevado de enfermar. Se estima que tan solo el 10% de los pacientes con infección latente por MT desarrollarán enfermedad en algún momento de su vida (Bennett et al., 2019).

¿Qué espectro de manifestaciones clínicas presenta y cómo influye en el diagnóstico y el tratamiento?

Las manifestaciones clínicas de la tuberculosis son tan variadas como los diferentes órganos a los que puede afectar MT. La presentación clínica más frecuente es en forma tuberculosis pulmonar, en la cual distinguir fundamentalmente dos entidades. La primoinfección tuberculosa cursa en general de forma asintomática o paucisintomática, produciendo una neumonitis inespecífica que afecta fundamentalmente a los lóbulos pulmonares medios o inferiores, acompañada de adenopatías hiliares. Esta es la forma que predomina en la infancia ya que en los adultos casi nunca se suele detectar por ausencia de síntomas importantes. La reactivación tuberculosa afecta fundamentalmente a los tercios apicales y posteriores de los lóbulos pulmonares superiores y a los segmentos posteriores de los lóbulos inferiores. Es muy típica la presencia de lesiones cavitadas denominadas cavernas, en las cuales se produce una alta concentración de oxígeno, de tal manera que el bacilo procede a su rápida multiplicación. La clínica es en la mayoría de los casos insidiosa, con febrícula, malestar general, pérdida de peso, sudoración nocturna, astenia y expectoración que en ocasiones puede ser hemoptoica. En esta fase el diagnóstico se puede realizar mediante obtención de muestras respiratorias (esputo, lavado broncoalveolar mediante broncoscopia u otras) y realizando diversas técnicas como la baciloscopia con tinción de Ziehl-Nielsen o auramina-rodamina, cultivo en medios específicos o realización pruebas de diagnóstico molecular de las que se hablará más adelante. La enfermedad en esta fase es muy contagiosa y requiere el aislamiento del paciente al menos 2 semanas desde el inicio del tratamiento. La afectación pulmonar pleural es la denominada pleuritis tuberculosa, que ocasiona un cuadro derrame pleural. El derrame suele ser unilateral, de comien-

zo brusco y habitualmente cursa con un exudado de predominio linfocitario que característicamente presenta pobreza de células mesoteliales, aumento de proteínas, glucosa disminuida, y elevación lactato deshidrogenasa (LDH) así como de la isoenzima 2 de la adenosindeaminasa (ADA). La carga bacilar en el espacio pleural es escasa por lo que tanto la baciloscopia como el cultivo presentan baja rentabilidad para el diagnóstico. Las pruebas moleculares tienen más sensibilidad, sin embargo, sigue siendo marcadamente inferior a la presente en formas bacilíferas. En ocasiones es necesaria la realización de una biopsia pleural para demostrar la presencia de bacilos en el interior de los granulomas (Agyeman et al., 2017).

Otro tipo infección tuberculosa es la denominada tuberculosis miliar o diseminada. Esta forma se produce como consecuencia de la diseminación hematológica del bacilo en personas con grave alteración del sistema inmunitario. Suele presentar un comienzo clínico insidioso, predominando los síntomas constitucionales y la fiebre. La presencia de tubérculos coroides en el fondo de ojo es muy característica pero poco frecuente. En la radiografía de tórax presenta un patrón micronodular típico que afecta a todos los lóbulos de forma bilateral, si bien hay que tener en cuenta que puede ser normal. Para el diagnóstico se suele realizar cultivos de esputo, baciloscopia y visualización de los bacilos en la médula ósea. La prueba de la tuberculina suele ser negativa, así como las técnicas de detección de interferón gamma debido al estado de inmunosupresión del paciente (Jameson et al., 2018).

La última forma es la denominada tuberculosis extrapulmonar, que normalmente se manifiesta en tres posibles contextos: en el seno de una tuberculosis miliar, simultáneamente a una reactivación pulmonar, o bien en ausencia de enfermedad pulmonar activa. Existen múltiples formas entre las que destacan la meningitis tuberculosa, que suele afectar a las meninges de la base encefálica, acompañándose de parálisis de pares craneales y cuyo diagnóstico realiza con el análisis del líquido cefalorraquídeo; la tuberculosis genitourinaria por diseminación hematológica, que produce infección renal que se extiende hacia la vía urinaria, causando típicamente alteraciones renoureterales; la osteomielitis tuberculosa, que fundamentalmente afecta a la columna dorsal en el conocido como "mal de Pott" con destrucción de los cuerpos vertebrales; la adenitis tuberculosa, que puede aparecer como forma localizada en el cuello, denominándose escrófula o en forma de adenopatías generalizadas; y otras formas con serositis, pericarditis, peritonitis o tuberculosis cutánea (Agyeman et al., 2017; Jameson et al., 2018).

¿Cómo podemos realizar el diagnóstico de tuberculosis?

El diagnóstico de la infección tuberculosa varía según situación de la enfermedad. En una infección latente los bacilos se encuentran dentro de los granulomas producidos por los macrófagos y, por tanto, no se está replicando de forma activa, siendo por ello que las pruebas microbiológicas e histológicas directas carecen de utilidad. Por ello, el diagnóstico de la infección tuberculosa latente se realiza de forma indirecta, poniendo de manifiesto la existencia de una reacción de hipersensibilidad celular o retardada (de tipo IV) específica frente a MT. Asumiéndose así que, si un sujeto presenta inmunidad celular específica frente a la micobacteria, aún puede conservar en su organismo una carga de bacilos lo suficientemente relevante como para llegar a reactivarse en el futuro. Hay dos pruebas fundamentales para la detección de formas latentes, la prueba de la tuberculina y los ensayos de liberación de interferón gamma (Jameison et al., 2018).

La prueba de la tuberculina, también denominada intradermorreacción de Mantoux, se basa en el principio de que el principal sistema defensivo contra MT está constituido por la inmunidad celular específica, mediada fundamentalmente por linfocitos T CD4, que se pone de manifiesto en la prueba de la tuberculina. Dicha reactividad se demuestra mediante la técnica de Mantoux, consistente en la inyección intradérmica en el antebrazo de un conjunto de proteínas denominado PPD (purified protein derivative). El PPD contiene proteínas comunes a *M. tuberculosis*, *M. bovis* (y su derivado el BCG) y a algunas micobacterias ambientales. Esta falta de especificidad del estímulo antigénico provoca a su vez una falta de especificidad en la prueba y causa la presencia de falsos positivos en pacientes vacunados con la vacuna BCG. La prueba se considera positiva cuando el diámetro mayor de la zona de induración, medida a las 48-72 horas, es mayor de 5 mm. En los pacientes con infección por VIH se debe considerar como positivo cualquier diámetro de la induración incluso aunque fuera menor de 5 mm. Hay que tener muy presente que una prueba positiva de la tuberculina solo traduce la existencia de una hipersensibilidad celular MT, embargo debido a la falta de especificidad de los antígenos contenidos en el PP de múltiples las circunstancias en las que es posible obtener un resultado falsamente positivo. Por otra parte, hay situaciones asociadas a falsos negativos como inmunodeficiencia grave, edades extremas, anergia o malnutrición proteica. Algunos pacientes con otras formas de enfermedad tuberculosa activa, también pueden presentar un resultado falsamente negativo (tuberculosis miliar o afectación de serosas). En los pacientes

mayores de 55 años existe una menor reactividad de la tuberculina, por lo que en estos casos puede repetirse la prueba al cabo de 7 o 10 días (efecto booster) produciéndose así estimulación de la inmunidad (Agyeman et al., 2017; Schaaf et al., 2009).

Ensayos de liberación de interferón gamma (IGRA) para subsanar algunas limitaciones de la prueba de la tuberculina se han venido desarrollando diversas técnicas se basan en la detección y cuantificación in vitro en el suero del paciente del interferón gamma sintetizado por los linfocitos T, que se activan tras ser expuestos al antígeno de la tuberculosis. Generalmente se consideran más específicos que la prueba de la tuberculina, pues los antígenos empleados exclusivos de MT, y carece de reactividad cruzada con otras micobacterias. Su principal limitación radica en su menor sensibilidad en sujetos con algún tipo de inmunodeficiencia celular, particularmente en la infección por VIH (Agyeman et al., 2017; Bennett et al., 2019).

El diagnóstico definitivo de la enfermedad tuberculosa pasa por la demostración de MT en alguna muestra clínica obtenida del paciente tras su cultivo en medios específicos (Lowenstein Jensen o Middlebrook). Hay que recordar que la presencia de ácido alcohol resistentes con las tinciones de Ziehl-Nielsen o auramina-rodamina es muy sugestiva de tuberculosis, particularmente en un contexto clínico radiológico apropiado, pero no es patognomónica. Otros métodos de detección incluyen el cultivo en medio líquido (BACTEC), que resulta más rápido que el cultivo clásico ya que tan solo tarda 2 semanas. En los últimos años los mayores avances en el diagnóstico de la infección tuberculosa se han producido en el campo de las técnicas de biología molecular basadas en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Steingart et al., 2011). Los test de diagnóstico molecular entre los cuales destaca el Xpert-MTB (análisis molecular automatizado basado en un kit comercial), han incrementado significativamente la detección de casos de enfermedad tuberculosa. Las técnicas de diagnóstico molecular también nos permiten la identificación de variantes de MP resistentes a algunos fármacos claves en el tratamiento enfermedad activa, tal como la rifampicina (Boehme et al., 2011). Existe un kit comercializado denominado Xpert MTB/RIF, capaz de realizar el diagnóstico y que, además, nos informa de la presencia de resistencias a rifampicina en pocas horas frente a las semanas que puede tardar un cultivo clásico. Sin embargo, el Xpert MTB/RIF tiene sus limitaciones, por ejemplo, su sensibilidad es inadecuada en pacientes con enfermedad vacilar cuando se usa en pacientes no bacilíferos y con

enfermedad extrapulmonar (WHO, 2013). Es por ello que se ha desarrollado el Xpert MTB/RIF Ultra para superar esas limitaciones, con dos objetivos de amplificación multicopia y una sensibilidad mejorada. un estudio activo reciente por Dormann et al ha comparado la efectividad diagnóstica entre Xpert MTB/RIF Ultra y Xpert MTB/RIF en muestras de esputo, obteniendo la última técnica mejores resultados en pacientes con enfermedad paucibacilar y en pacientes con VIH, sin embargo, los resultados en cuanto a la detección de resistencia a la rifampicina fueron similares (McNerney et al., 2015).

Otros métodos diagnósticos que la OMS está comenzando a avalar es la amplificación isotérmica mediada por bucle (TB-LAAM) de lipoarabinomano en flujo lateral de orina (LAM). Estos dos test diagnósticos tienen sus fortalezas, pero también sus limitaciones, sin embargo, lo que los caracteriza es el objetivo de tener un diagnóstico rápido, qué son poco costosos y se centralizan en un laboratorio y que requieren poca experiencia para llevarlos a cabo (Gupta-Wright et al., 2018).

¿De qué tratamientos disponemos y que resistencias pueden aparecer?

Las cepas de MT resistentes a antibióticos son un problema emergente tanto en los hospitales como en la comunidad, exhibiendo diferentes niveles de resistencia. La más frecuente es la resistencia a la rifampicina (RR), sin embargo, podemos encontrar cepas resistentes a múltiples fármacos (MDR) así como resistentes a casi todos los antituberculosos conocidos (XDR) (Harding, 2020). La tuberculosis resistente a rifampicina es como su propio nombre indica resistente únicamente a este antibiótico y no al resto de fármacos de primera o segunda línea. La tuberculosis MDR define como la resistencia a al menos dos los antituberculosos más potentes (isoniacida y rifampicina), la tuberculosis XDR se define como aquella MDR que además presenta resistencia a al menos una droga de cada una de las dos familias importantes de antituberculosos de segunda línea (quinolonas e inyectables). Se estima que 558000 casos de tuberculosis de todos los diagnosticados en 2017 fueron resistentes a rifampicina y de ellos el 82% fueron MDR. Los regímenes de tratamiento para la tuberculosis RR y MDR son habitualmente más largos, de al menos 18 meses o más en una selección de fármacos de primera línea junto con combinaciones de fármacos de segunda línea, lo que incrementa su coste y su toxicidad. La OMS ha publicado una tasa de éxito del 55% para el tratamiento de la tuberculosis MDR (Tabarsi et al.,

2012; Seung et al., 2015). Desde 2007 se han aislado casos de tuberculosis con resistencia a todos los fármacos de primera y segunda línea en Europa (Migliori et al., 2007), y un estudio iraní publicado en 2009 describió un grupo 15 pacientes con resistencia a todos los antituberculosos testados (Velayati et al., 2009). Otro estudio publicado en 2012 en India también describe cuatro pacientes con tuberculosis totalmente resistente (Udwadia et al., 2012). Es por ello que algunos autores ya hablan de tuberculosis extremadamente resistente (XXDR) y de tuberculosis totalmente resistente (TDR).

Según el tipo de resistencia la que nos estemos enfrentando se pueden clasificar en resistencias adquiridas y resistencias intrínsecas. Las bacterias normalmente adquieren resistencia antibiótica bien a través de mutaciones, o bien de transmisión horizontal de genes mediados por plásmidos, transposones o fagos. Sin embargo, en MT no está descrita transmisión genética horizontal mediante elementos móviles y, por lo tanto, la resistencia a fármacos se produce debido a mutaciones en los cromosomas, en los genes que codifican las dianas farmacológicas o en las enzimas que metabolizan los fármacos en respuesta a la selección causada por la presión antibiótica (Culyba et al., 2015). Los mutantes resistentes evolucionan debido a la continua exposición a los fármacos durante los largos periodos de tratamiento que requieren los regímenes utilizados (Wintersdorff et al., 2016). Por lo tanto, la concentración de los antituberculosos es un determinante fundamental de las mutaciones asociadas a la resistencia. Generalmente en cualquier bacteria, por debajo de la concentración óptima de los antituberculosos aparecen mutaciones que confieren resistencia a costa de una reducción de la adaptabilidad y traduciéndose por tanto en un crecimiento, supervivencia y virulencia disminuidas. Sin embargo, múltiples estudios han demostrado que las mutaciones que se producen en MT no se traducen en una disminución de la adaptabilidad y sin embargo exhiben unos niveles de resistencia muy altos (Nguyen et al., 2016).

Los fármacos utilizados para el tratamiento de la tuberculosis se dividen en cinco grupos: el grupo 1 formado por cuatro fármacos de primera línea para el tratamiento (rifampicina, isoniazida, etambutol y pirazinamida). El grupo 2 por fármacos intravenosos como los aminoglucósidos, la capreomicina o la estreptomycin. El grupo 3 está formado por las fluorquinolonas como levofloxacino, o moxifloxacino. El grupo 4 compuesto por otros fármacos derivados del ácido nicotínico como la etionamida y la protionamida, derivados de la cicloserina como la terizidona o el ácido paraminosalicílico. El grupo 5 se compone de fármacos que no suponen el nú-

Tabla 1. Fármacos activos más importantes frente a *Mycobacterium tuberculosis*. *No disponible en España-

Familia	Fármaco	Actividad	Mecanismo de acción	Genes diana
Rifamicinas	Rifampicina	Bactericida	Bloquea la síntesis de proteínas inhibiendo la síntesis de RNA	rpoB, rpoA, rpoC
Hidrozidas	Isoniacida	Bactericida	Inhibe la síntesis de ácido micólico	katG, inhA, kasA, Ndh, ahpC, FabG, Fad E24
Nicotinamidas	Pirazinamida	Bactericida	Inhibe la síntesis de precursores de la coenzima A	pncA, rpsA, panD, clpC1, gpsI
Etambutol	Etambutol	Bacteriostático	Inhibe la arabinosiltransferasa, impidiendo la síntesis de la pared bacteriana	embC, ambA, ambB, embR, rmlD
Fluorquinolonas	Levofloxacino	Bactericida	Impide la síntesis de DNA mediante la inhibición de la DNA girasa (topoisomerasa II)	Topoisomerasa II (gyrA)
	Ciprofloxacino Moxifloxacino Gatifloxacino*		Igual que el resto de fluorquinolonas, pero además produce fragmentación del DNA	
Aminoglucósidos	Kanamicina*/Amikacina	Bactericida	Bloquea la síntesis de proteínas mediante la inhibición de la cadena peptídica.	rrs, whiB7
	Estreptomina		Se une a la subunidad 30S y 16S, inhibiendo la síntesis de proteínas	rpsL, rrs, gidB
Péptidos cíclicos	Capreomicina/Viomicina*	Bactericida	Inhibe la síntesis de proteínas	rrs, tlyA, eis, whiB7
Tionamidas	Etionamida/Protionamida	Bacteriostático	Inhibe la síntesis de ácido micólico	ethA, inhA, Ndh, mshA, ethR, kasA
D-cicloserinas	Cicloserina Terizidona	Bacteriostático	Inhibe la síntesis de proteoglicanos de la pared celular	alr, ddl, cycA, ald alr, ddl
Iminoferacinas	Clofazimina	Bacteriostático	Interfiere con el metabolismo redox, produciendo especies reactivas del oxígeno	Rv0678 (mmpR), Rv2535C (pepQ), Rv1979c
Oxazolidinonas	Linezolid	Bactericida	Inhibe la síntesis de proteínas	rri, rplC
Diarylquinolinas	Bedaquilina	Bactericida	Inhibe la homeostasis del ATP	atpE, Rv0678 (mmpR)
Nitroimidazoles	Delamanid	Bactericida	Inhibe la síntesis de ácidos micólicos y proteínas	Rv0407 (fgd1), fbiA/B/C, Rv3547 (Ddn)
Ácido paraminosalicílico	Ácido paraminosalicílico	Bacteriostático	Inhibe la síntesis de folatos	thyA, folC, dfrA, ribD

cleo de tratamiento clásico de la TB-MDR, y está formado por nuevos fármacos como la bedaquilina y el delamanid, oxazolidinonas como el linezolid, otros fármacos como la clofazimina, algunos beta-lactámicos como imipenem y otros betalactámicos con inhibidores de betalactamasas (tabla 1) (WHO, 2019; Hoagland et al., 2016; Tiberi et al., 2018). Hay múltiples pautas de tratamiento de la tuberculosis multisensible, según la necesidad de tratar una infección tuberculosa latente o bien una infección pulmonar o extrapulmonar (tabla 2). Los regímenes clásicos para el tratamiento de la tuberculosis multirresistente incluyen al menos cinco fármacos efectivos contra MT, y consisten en pirazinamida más cuatro fármacos de segunda línea: uno del grupo 2 otro del grupo 3 y al menos dos del Grupo 4. Si no se consigue alcanzar el mínimo de fármacos se deben añadir agentes del Grupo 5 (figura 1). Estos esquemas de tratamiento tan complejos además deben mantenerse durante largos periodos de tiempo, que pueden superar los 18 meses, lo que hace que las tasas de abandono sean muy elevadas debido a la toxicidad y al tiempo de tratamiento, lo cual favorece a su vez el incremento de las resistencias (Falzon et al., 2017).

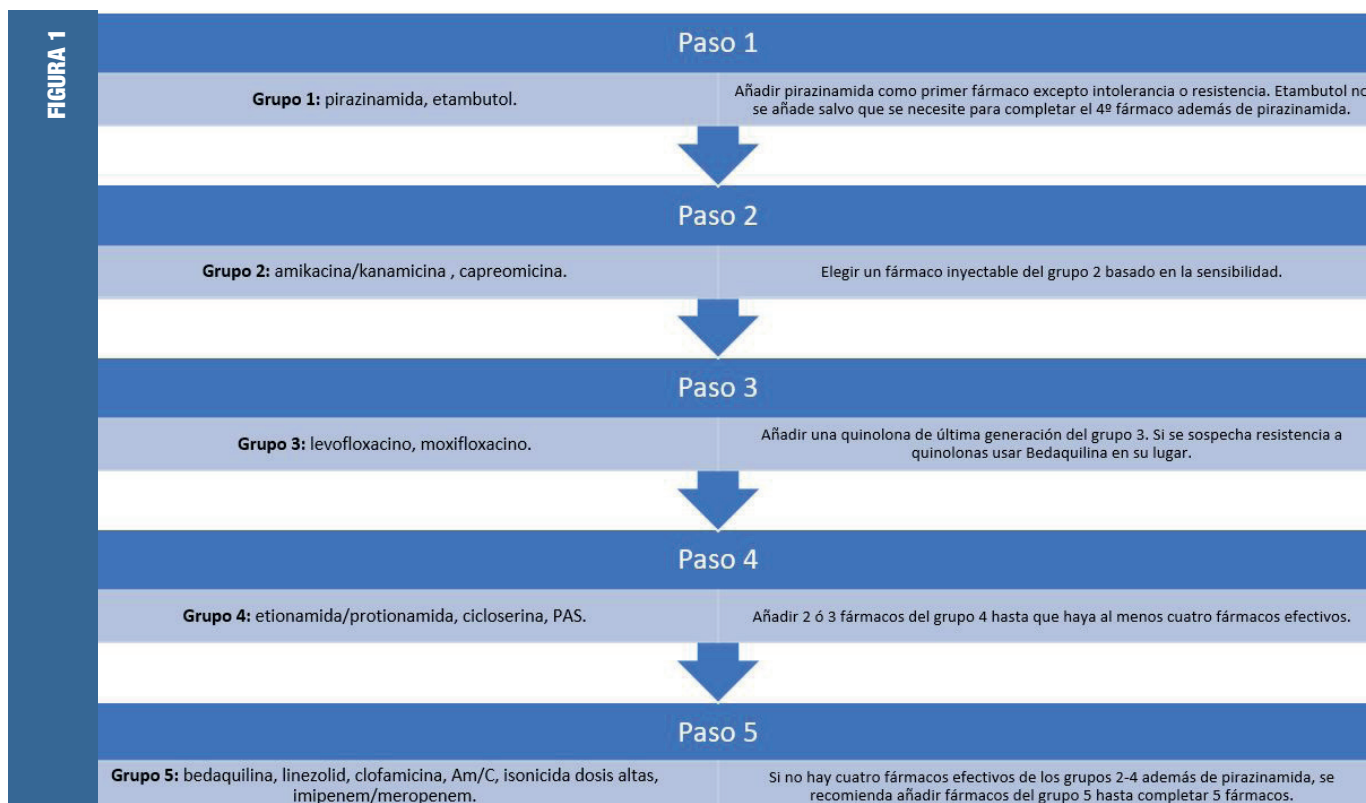
La rifampicina se lleva utilizando en el tratamiento de la tuberculosis desde 1972. Siempre se ha considerado el fármaco más efectivo y se ha

usado eficientemente como antituberculoso de primera línea desde que se desarrolló, siendo efectivo frente a bacilos tanto en fase replicativa y quiescente. Este grupo de antibióticos se aisló por primera vez del hongo *Streptomyces mediterranei*, y su uso ha permitido acortar las duraciones en los tratamientos de los pacientes con tuberculosis. Actúa mediante la unión a la RNA polimerasa e inhibiendo la elongación de la cadena de RNA y por tanto presentando un efecto bactericida. Mutaciones en el codón 426-452 en el gen rpoB provoca la resistencia a la rifampicina (Palomino et al., 2014). La isoniazida se lleva utilizando como fármaco antituberculoso desde 1952, posee una estructura simple que contiene un grupo hidracina y un anillo piridina, y es activo contra los bacilos en fase replicativa. Cuando la isoniazida es metabolizada se une a la enoíl ACP reductasa, inhibiendo la síntesis del ácido micólico necesario para la formación de la pared bacteriana. Las resistencias al etambutol se producen en los genes que codifican esta enzima (Rawat et al., 2003). El etambutol inhibe la arabinosiltransferasa e impide la biosíntesis del arabinoglicano necesario en la pared celular. Las resistencias se producen por mutaciones que alteran la estructura proteica de determinadas enzimas provocando una disminución de la actividad del etambutol (He et al., 2015). La pirazinamida es un fármaco que

Tabla 2. Esquemas de tratamiento de la tuberculosis sensible y con resistencias a un solo fármaco.

TABLA 2	Denominación	Posología	Duración
	Tratamiento de la infección tuberculosa latente		
	Esquema clásico	Isoniacida 5 mg/kg cada 24 horas	6 meses
	Esquema alternativo	Rifampicina 10 mg/kg cada 24 horas	3 meses
		Isoniacida 5 mg/kg cada 24 horas	
Tratamiento de la enfermedad tuberculosa			
Tuberculosis pulmonar	Rifampicina 10 mg/kg cada 24 horas Isoniacida 5 mg/kg cada 24 horas		6 meses
	Pirazinamida 25-35 mg/kg cada 24 horas Etambutol 15-25 mg/kg cada 24 horas		2 meses
	Rifampicina 10 mg/kg cada 24 horas Isoniacida 5 mg/kg cada 24 horas		7-10 meses
	Pirazinamida 25-35 mg/kg cada 24 horas Etambutol 15-25 mg/kg cada 24 horas		2 meses
Meningitis tuberculosa	Rifampicina 10 mg/kg cada 24 horas Isoniacida 5 mg/kg cada 24 horas		7-10 meses
	Pirazinamida 25-35 mg/kg cada 24 horas Etambutol 15-25 mg/kg cada 24 horas		2 meses
Tuberculosis extrapulmonar	Rifampicina 10 mg/kg cada 24 horas Isoniacida 5 mg/kg cada 24 horas		6 meses (+3-12 meses si TBC miliar)
	Pirazinamida 25-35 mg/kg cada 24 horas Etambutol 15-25 mg/kg cada 24 horas		2 meses
Tuberculosis resistente a Rifampicina	Levofloxacino 10-15 mg/kg cada 24 horas ó Moxifloxacino 400mg cada 24 horas Isoniacida 5 mg/kg cada 24 horas Etambutol 15-25 mg/kg cada 24 horas		10-18 meses
	Pirazinamida 25-35 mg/kg cada 24 horas		2 meses
	Rifampicina 10 mg/kg cada 24 horas Levofloxacino 10-15 mg/kg cada 24 horas ó Moxifloxacino 400mg cada 24 horas		4 meses
	Pirazinamida 25-35 mg/kg cada 24 horas Etambutol 15-25 mg/kg cada 24 horas		2 meses
Tuberculosis resistente a Isoniacida	Rifampicina 10 mg/kg cada 24 horas Levofloxacino 10-15 mg/kg cada 24 horas ó Moxifloxacino 400mg cada 24 horas		4 meses
	Pirazinamida 25-35 mg/kg cada 24 horas Etambutol 15-25 mg/kg cada 24 horas		2 meses

Figura 1. Esquema de tratamiento de la tuberculosis multiresistente.



fundamentalmente se utiliza para acortar el tratamiento de entre 9 y 12 meses a aproximadamente 6 meses en combinación con rifampicina, isoniazida y etambutol. La pirazinamida se convierte en ácido piracinoico, que es la forma activa, y actúa impidiendo la síntesis de ácido micólicos. Las resistencias se producen por mutación enzima que transforma la pirazinamida en su forma activa (Scorpio et al., 1996).

Otros fármacos de segunda línea también son susceptibles a sufrir resistencias mediante mutaciones de genes concretos. La estreptomina es un aminoglucósido que es activo frente a los bacilos en crecimiento y actúa inhibiendo la síntesis de proteínas a nivel del ribosoma, por lo que mutaciones en el gen *rpsL* pueden causar resistencia, a la vez que una desestabilización de la subunidad 16S (Finken et al., 1993). Las fluorquinolonas tienen una alta actividad bactericida contra fases replicativas y quiescentes, y son un pilar clave del tratamiento de la TB-MDR. Actúan interfiriendo en la replicación y transcripción del DNA inhibiendo la topoisomerasa II (DNA girasa), por lo que mutaciones cromosómicas en *gyrA* y *gyrB* pueden causar resistencia a la fluorquinolonas (Lu et al., 2014). Otros fármacos intravenosos como los aminoglucósidos kanamicina y amikacina, y otros como capreomicina y viomicina también son susceptibles a sufrir resistencias mediante mutaciones en los genes que codifican las subunidades ribosómicas a las que se unen (Kambli et al., 2016). La etionamida es un profármaco que precisa de la enzima monooxigenasa para activarse y cuyo principio activo inhibe la ACP reductasa dependiente de NADH que interfiere en la síntesis de ácido micólico, por lo que mutaciones en los genes *ethA*, *ethR* e *inhA* que codifican esta enzima confieren resistencia a la etionamida (Hazbón et al., 2006). El ácido paraminosalicílico (PAS) interfiere con la síntesis de folatos, por lo que mutaciones con pérdida de sentido en los genes que codifican la dihidrofolato sintetasa (*folC*) confieren resistencia a este fármaco (Fei Zhao et al., 2014). La cicloserina es un profármaco análogo de la alanina y actúa interfiriendo la síntesis de peptidoglicano en la pared celular de MT, mutaciones en el gen *alrA* que codifica la D-alanina racemasa provoca su resistencia (Caceres et al., 1997). El linezolid se une a la subunidad 50S del ribosoma inhibiendo la síntesis de proteínas, siendo la resistencia a linezolid muy inusual se sabe que está presente en la cepa MDR 210 y que las mutaciones en 23s rRna también la generan (tabla 1) (Richter et al., 2007).

¿Qué nuevos fármacos podemos incorporar y cuáles son las nuevas pautas de tratamiento?

Afortunadamente en los últimos años se han venido desarrollando nuevos fármacos antituberculosos que han demostrado ser eficaces en la erradicación de MT multirresistente. La bedaquilina es una diarilquinolona que bloquea la bomba de protones de la ATP sintasa de las micobacterias, causando una interrupción en la síntesis de ATP que lleva a la muerte celular tanto de las micobacterias en fase replicativa como quiescente, por lo que presenta una actividad bactericida superior a la de la rifampicina e isonacida (Singh et al., 2020). Sin embargo, las resistencias a la bedaquilina de producen por mutaciones en el gen *AtpE* que codifica la subunidad C de la ATP sintetasa (Andries et al., 2005), además la sobreexpresión de bombas de expulsión como *MmpL5* también confieren resistencia a la bedaquilina (Xu et al., 2017). El delamanid y el pretomanid son nitroimidazoles que inhiben la síntesis de ácidos micólicos y son activos frente a forma replicativas y quiescentes de MT, demostrando mejorar las pautas de tratamiento para la TB-MDR (Schito et al., 2015). Sin embargo, para realizar su función, delamanid y pretomanid necesitan ser activados mediante la enzima nitroreductasa por lo que mutaciones en el gen *ddn* que la codifica confiere resistencia a esta familia de fármacos (Bloemberg et al., 2015). Una nueva oxazolidinona denominada sutezolid está actualmente en desarrollo y actúa de forma parecida al linezolid, uniéndose a la subunidad 50S y a la 23S del ribosoma, y por tanto inhibiendo la síntesis proteica (Wallis et al., 2014). SQ-109 es un análogo del etambutol que está en desarrollo actualmente y que es activo frente a MT tanto sensible como resistente (Sacksteder et al., 2012).

Gracias al desarrollo de nuevos fármacos se pueden abrir nuevos horizontes a la hora de simplificar y acortar las pautas de tratamiento de la tuberculosis multirresistente (Khawbung et al., 2021). Un estudio publicado en 2020 por Conradie et al. se realizó una pauta de tratamiento con tres fármacos orales (bedaquilina, pretomanid y linezolid) durante 26 semanas y se evaluó la seguridad y la eficacia en 109 pacientes con MT MDR y XDR. Los resultados demostraron una eficacia del 90% para la erradicación de MT, presentando únicamente 11 paciente desenlaces desfavorables entre los cuales hubo 7 muertes. La toxicidad por linezolid en forma de neuropatía periférica ocurrió en un 81% de los pacientes, así como la presencia de mielosupresión en un 48%, sin embargo, estos y otros efectos secundarios fueron adecuadamente manejados mediante reducciones de dosis o interrupciones del tratamiento con linezolid (Conradie et al., 2020).

Desarrollar una vacuna contra la tuberculosis persiste como una prioridad de salud pública a nivel global dada la naturaleza de la actual epidemia y a la diseminación de cepas multirresistentes de MT. El grado de protección que ha demostrado conferir la vacuna candidata M72/AS01E en los ensayos clínicos de fase 2b sugiere que el desarrollo de una vacuna eficaz contra la tuberculosis es perfectamente factible. Además, los resultados preclínicos en fase avanzada de algunas de las vacunas candidatas, como por ejemplo las que usan citomegalovirus como vector, ofrecen esperanzas de futuro. Otras vacunas vivas como MTBVAC han sido genéticamente modificadas para únicamente inhibir ciertos genes de virulencia, lo que hace que la vacuna sea mucho más inmunogénica que la clásica BCG y está demostrando resultados prometedores, sin embargo, esto puede llevar a causar infección latente en los niños y las personas inmunocomprometidas. Diversificar las respuestas inmunitarias generadas por las vacunas, así como las rutas y los métodos de administración representan nuevas estrategias que probablemente incrementarán el éxito futuro de las vacunas. El éxito en este tema no puede ser opcional, dada la amenaza y los costes que tiene para la salud pública la actual epidemia de tuberculosis, siendo necesario un esfuerzo global que se mantenga en el tiempo hasta que el desarrollo de una vacuna segura y eficaz se consiga (Schrager et al., 2020).

Estos tratamientos recientemente desarrollados van abriendo nuevas puertas a la hora de realizar un tratamiento de la tuberculosis multirresistente que sea a la vez efectivo, seguro y lo más cómodo posible para el paciente. Es aquí donde radica la importancia de desarrollar fármacos cada vez más efectivos y por tanto pautas cada vez más cortas, ya que si cumplimos estos tres requisitos nos aseguraremos de que las pautas de tratamiento se cumplan íntegramente y de que no hay que suspenderlas por problemas de toxicidad, abandono del tratamiento o pérdida del seguimiento del paciente. Y es que esta es la clave para evitar el desarrollo de resistencias a los fármacos clásicos y también de resistencias que aún no conocemos a los fármacos recientemente descubiertos.

Referencias

- Agyeman AA, R. Ofori-Asenso Tuberculosis. an overview J. Public Health Emerg. 2017;1:7–7.
- Andries K, Erman MZ, E. Lee A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of Mycobacterium tuberculosis Science. Vol. 307. 2005. p. 223–227.
- Armstrong J, A P. Hart Phagosome-lysosome interactions in cultured macrophages infected with virulent tubercle bacilli. Reversal of the usual nonfusion pattern and observations on bacterial survival. J. Exp. Med. 1975, 142, 1–16.
- Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and bennett's principles and practice of infectious diseases: 2-Volume set. 9th ed. Philadelphia, PA: Elsevier - Health Sciences Division; 2019.
- Bloemberg GV, Gagneux S, C E. Böttger Acquired resistance to bedaquiline and delamanid in therapy for tuberculosis N. Engl J Med. 2015;373(20).
- Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. Lancet. 2011;377.
- Caceres NE, Harris NB, Wellehan JF, Feng Z, Kapur V, G R. Barletta Overexpression of the D-alanine racemase gene confers resistance to D-cycloserine in Mycobacterium smegmatis. J Bacteriol. 1997 Aug;179(16):5046-55.
- Conradie F, Diacon AH, Ngubane N, Howell P, Everitt D, Crook AM, et al. Bedaquiline, pretomanid and linezolid for treatment of extensively drug resistant, intolerant or non-responsive multidrug resistant pulmonary tuberculosis. N Engl J Med. 2020;382(10):893–902.
- Culyba MJ, Mo CY, Kohli RM. Targets for combating the evolution of acquired antibiotic resistance. Biochemistry. 2015;54(23):3573–82.
- Falzon D, Schünemann HJ, Harausz E, González-Angulo L, Lienhardt C, Jaramillo E, et al. World Health Organization treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update. Eur Respir J. 2017;49:1602308.
- Fei Zhao et al. Binding pocket alterations in dihydrofolate synthase confer resistance to para-aminosalicylic acid in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(3):1479-87.
- Finken M, Kirschner P, Meier A, Wrede A, C E. Böttger Molecular basis of streptomycin resistance in Mycobacterium tuberculosis: alterations of the ribosomal protein S12 gene and point mutations within a functional 16S ribosomal RNA pseudoknot Mol. Microbiol. 1993;9(6):1239–1246.
- Furin J, Cox H, Pai M. Tuberculosis. Lancet. 2019;393(10181):1642–56.
- Gupta-Wright A, Corbett EL, van Oosterhout JJ, Wilson D, Grint D, Alufandika-Moyo M, et al. Rapid urine-based screening for tuberculosis in HIV-positive patients admitted to hospital in Africa (STAMP): a pragmatic, multicentre, parallel-group, double-blind, randomised controlled trial. Lancet. 2018;392(10144):292–301.
- Harding E. WHO global progress report on tuberculosis elimination Lancet Respir. Med. 2020;8(1):19.
- Hazbón MH, Brimacombe M, Valle MBD, Cavatore M, Guerrero MI, Varma-Basil M, et al. García-García Population genetics study of isoniazid resistance mutations and evolution of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother. 2006 Aug;50(8):2640-9.
- He L, Wang X, Cui P, Jin J, Chen J, Zhang W, et al. Zhang ubiA (Rv3806c) encoding DPPR synthase involved in cell wall synthesis is associated with ethambutol resistance in Mycobacterium tuberculosis Tuberculosis. 2015;95(2):149–154.
- Hoagland DT, Liu J, Lee RE. New agents for the treatment of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis. Adv Drug Deliv Rev. 2016;102:55–72.
- Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. Harrison's principles of internal medicine, twentieth edition (vol.1 & vol.2). 20th ed. Columbus, OH: McGraw-Hill Education; 2018.
- Kambli P, Ajbani K, Nikam C, Sadani M, Shetty A, Ud-wadia Z, et al. Rodrigues Correlating rrs and eis promoter mutations in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis with phenotypic susceptibility levels to the second-line injectables. Int J Mycobacteriol. 2016 Sep;5(3):370-372.
- Khawbung JL, Nath D, Chakraborty S. Drug resistant Tuberculosis: A review. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2021;74(101574):101574.
- Lu J, Liu M, Wang Y, Pang Y, Z. Zhao Mechanisms of fluoroquinolone monoresistance in Mycobacterium tuberculosis FEMS Microbiol. Lett. 2014;353(1):40–48.
- Malik ZA, Denning GM, Kusner DJ. Inhibition of Ca(2+) signaling by Mycobacterium tuberculosis is associated with reduced phagosome-lysosome fusion and increased survival within human macrophages. J Exp Med. 2000;191(2):287–302.
- McNerney R, Zumla A. Impact of the Xpert MTB/RIF diagnostic test for tuberculosis in countries with a high burden of disease. Curr Opin Pulm Med. 2015;3:304–8.
- Migliori GB, De Iaco G, Besozzi G, Centis R, Cirillo DM. First tuberculosis cases in Italy resistant to all tested drugs. Euro Surveill. 2007;12(5):E070517.1.
- Nguyen L. Antibiotic resistance mechanisms in M. tuberculosis: an update. Arch Toxicol. 2016;90(7):1585–604.
- Organization WH. 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 extra-pulmonary TB in adults and children. Policy up.
- Palomino JC, A. Martin Drug resistance mechanisms in Mycobacterium tuberculosis Antibiotics. Vol. 3. 2014. p. 317–340.
- 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;100(24):13881–6.
30. Richter E, Rüscher-Gerdes S, D. Hillemann First linezolid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* Antimicrob. Agents Chemother. 2007;51(4):1534–1536.
 31. Sacksteder KA, Protopopova M, Barry CE, Andries K, Nacy CA. Discovery and development of SQ109: a new antitubercular drug with a novel mechanism of action. Future Microbiol. 2012;7(7):823–37.
 32. Schaaf HS, Zumla A, editors. Tuberculosis. Elsevier Health Sciences; 2009.
 33. 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;61Suppl 3(suppl 3):S102-18.
 34. Schragar, L. K., Vekemens, J., Drager, N., Lewinsohn, D. M., & Olesen, O. F. The status of tuberculosis vaccine development. The Lancet Infectious Diseases. 2020; 20(3): e28–37.
 35. Scorpio Y. Zhang Mutations in *pncA*, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus Nat. Med. 1996;2(6):662–667.
 36. Seung KJ, Keshavjee S, Rich ML. Multidrug-resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis. Cold Spring Harb Perspect Med. 2015;5(9):a017863.
 37. Sharma SK, Mohan A. Multidrug-resistant tuberculosis: a menace that threatens to destabilize tuberculosis control. Chest. 2006;130(1):261–72.
 38. Singh R, Dwivedi SP, Gaharwar US, Meena R, Rajamani P, Prasad T. Recent updates on drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. J Appl Microbiol. 2020;128(6):1547–67.
 39. Steingart KR, Flores LL, Dendukuri N, Schiller I, Laal S, Ramsay A, et al. (2011) Commercial Serological Tests for the Diagnosis of Active Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS Med 8(8): e1001062.
 40. Tabarsi P, Mardani M. Extensively drug-resistant tuberculosis: A review article. Arch Clin Infect Dis. 2012;7(3):81–4.
 41. 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; 24:86–98.
 42. Udawadia ZF, Amale RA, Ajbani KK, Rodrigues C. Totally drug-resistant tuberculosis in India. Clin Infect Dis. 2012;54(4):579–81.
 43. Velayati AA, Masjedi MR, Farnia P, Tabarsi P, Ghanavi J, ZiaZarifi AH, et al. Emergence of new forms of totally drug-resistant tuberculosis bacilli: super extensively drug-resistant tuberculosis or totally drug-resistant strains in Iran. Chest. 2009;136(2):420–5.
 44. Wallis RS, Dawson R, Friedrich SO, Venter A, Paige D, Zhu T, et al. Mycobactericidal activity of sutezolid (PNU-100480) in sputum (EBA) and blood (WBA) of patients with pulmonary tuberculosis. PLoS One. 2014;9(4): e94462.
 45. Wintersdorff CJH, Penders J, Niekerk JM, Mills ND, Majumder S, Alphen LB, et al. Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. Front Microbiol. 2016;7:173.
 46. World Health Organization. Global tuberculosis report 2019. Genève, Switzerland: World Health Organization; 2019.
 47. World Health Organization. World Health Organization Multidrug and Extensively Drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 Global Report on Surveillance and Response World Health Organization. Geneva, Switzerland; 2010.
 48. Xu J, Wang B, Hu M, Huo F, Guo S, Jing W, et al. Lu Primary clofazimine and bedaquiline resistance among isolates from patients with multidrug-resistant tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Jun; 61(6): e00239-17.