

Uso de metales de transición en ensayos contra *Mycobacterium tuberculosis* multifarmacorresistente

Liliana Montelongo Peralta^{ab}, José Prisco Palma Nicolás^b y Rubén Morones Ramírez^{a*}

^aDepartamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, UANL, Monterrey, NL, México.

^bDepartamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UANL, Monterrey, NL, México.

*morones.ruben@gmail.com

Palabras clave: *Mycobacterium tuberculosis*, plata, cobre, níquel, zinc

Introducción

Mycobacterium tuberculosis es el principal agente causal de la tuberculosis (TB) en el humano¹. La TB fue declarada como “emergencia global” por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en Abril de 1993. Actualmente es una de las 10 principales causas de mortalidad en el mundo. Se estima que en el año 2015 alrededor de 10.4 millones de personas se enfermaron de TB a nivel mundial².

En el año 2015 entre el total de los casos notificados de TB hubo aproximadamente 480,000 casos de TB multifarmacorresistente (TB-MFR) a nivel mundial, la cual es causada por una cepa que no responde al tratamiento con isoniacida y rifampicina, los fármacos más efectivos para el tratamiento de TB. El desarrollo de fármaco resistencia entre las Micobacterias contra los fármacos de primera línea es una cuestión de gran preocupación que requiere inmediata atención.

Actualmente ha habido un creciente interés en los efectos antibacterianos de los metales. La toxicidad de los metales es debido a que pueden asociarse fuertemente con bases débiles como los grupos sulfhidrilo de las proteínas y se ha encontrado que el uso de éstos a bajas concentraciones ha potenciado la actividad antimicrobiana de complejos contra *M. tuberculosis* in vitro³.

Parte experimental

Se empleó *M. tuberculosis* H37Rv 27294 (American Type Culture Collection) como cepa de referencia y el aislado clínico Ox-PS-22 del cepario del Centro Regional de Control de Enfermedades Infecciosas. La identificación de ambas cepas como *M. tuberculosis* se realizó mediante las pruebas bioquímicas de producción de Niacina (+) y reducción de nitratos (+). La sensibilidad a isoniacida (INH), rifampicina (RIF), etambutol (EMB) y estreptomycin (STR) se determinó mediante el método estándar de las proporciones (método indirecto en medio de Lowenstein-Jensen). Se calcularon las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) para INH, RIF, EMB y STR, en ensayos por triplicado usando el microensayo en placa de 96 pozos por el método de Azul Alamar (MABA) previamente descrito por Luna et al⁴. Se calcularon las MIC para sales de plata (AgNO_3), cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), Níquel ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y Zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) mediante el método MABA, en ensayos por triplicado.

En todos los ensayos se incluyeron controles de crecimiento bacteriano y de esterilidad. Se establecieron como valores de corte: ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ para STR, ≥ 1 $\mu\text{g/ml}$ para INH, ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$ para RIF y ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ para EMB.

Resultados y discusión

Se confirmó por MABA la susceptibilidad de *M. tuberculosis* H37Rv a INH, RIF, EMB y STR, mientras que el aislamiento clínico OxPs-22 corresponde a una cepa multifarmacorresistente ya que se encontró resistente a RIF, INH, EMB, y STR. El perfil de sensibilidad para ambas cepas coincidió con el obtenido por el método indirecto de proporciones en medio Lowenstein-Jensen. Las MIC para H37Rv fueron 0.062 $\mu\text{g/ml}$ para INH, <0.062 $\mu\text{g/ml}$ para RIF, 1.0 $\mu\text{g/ml}$ para EMB, <0.125 $\mu\text{g/ml}$ para STR. Las MIC para OxPs-22 fueron 1.0 $\mu\text{g/ml}$ para INH, 2.0 $\mu\text{g/ml}$ para RIF, 8.0 $\mu\text{g/ml}$ para EMB, 4.0 $\mu\text{g/ml}$ para STR.

H37Rv presentó mayor sensibilidad ante el tratamiento con sales (plata, cobre, zinc, níquel) comparada con OxPs-22, para AgNO_3 y $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ mostró 2 veces más sensibilidad, para $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ mostró 5 veces más sensibilidad y para $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ mostró >5 veces sensibilidad. Las MIC de AgNO_3 , $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ para H37Rv fueron 20 μM , 200 μM , 35 μM y 100 μM y para OxPs-22 fueron 40 μM , 500 μM , 200 μM y >500 μM , respectivamente. Lo anterior coincide con lo reportado por Shi y Darwin que indican que podría haber una relación entre la homeostasis del cobre y la secreción de proteínas de virulencia en *M. tuberculosis*⁵. Por otra parte se conoce que *M. tuberculosis* ha desarrollado mecanismos de resistencia para protegerse de la toxicidad de los metales, como el control de consumo, secuestro de metales dentro de la célula y el flujo de metales.

Conclusiones

Se identificó un aislado clínico de *M. tuberculosis* 2 veces más resistente al tratamiento con AgNO_3 y NiSO_4 , 5 veces más resistente a CuSO_4 y ZnSO_4 comparado con la cepa de referencia *M. tuberculosis* H37Rv.

Referencias

1. Shojaei T, Mohd M, Tabatabaei M, Ekrami A, Motallebi R, Rahmani T, Hajalilou A, Jorfi R. Braz J Infect Dis. 2014;18,600-608.
2. OMS Informe Mundial de la tuberculosis http://www.who.int/tb/publications/global_report/es/ (consultado el 10 de Agosto del 2016)
3. Rodriguez GM, Neyrolles O. Microbiol Spectr. 2014;3,1-11
4. Luna J, Martínez G, Parra R, Enciso A, Torres J, Quesada F, Delgadillo R, Franzblau S. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2003;22,21-27
5. Shi X, Heran K. Metallomics. 2015;7,929-934