

## RESUMEN EN CASTELLANO

La resistencia a antibióticos en tuberculosis es un grave problema de salud global y un obstáculo cada vez mayor para el control de la enfermedad. En 2021, el 12% de las muertes por tuberculosis fueron debidas a cepas resistentes de la bacteria, siendo este porcentaje mucho más elevado en algunos países donde además una gran parte de los nuevos casos son ya resistentes. Estos datos implican una gran carga económica para los servicios de salud pública y amenazan con eliminar los progresos en el control de la tuberculosis que se han hecho en los últimos 30 años. En esta tesis usamos la genómica como una herramienta para estudiar diferentes aspectos de la biología de la bacteria en relación al desarrollo de resistencia a antibióticos y aportamos nuevo conocimiento para afrontar el reto de su erradicación.

En primer lugar, caracterizamos nuevos determinantes genómicos de la resistencia a isoniazida, uno de los antibióticos de primera línea más ampliamente usados. Para ello utilizamos una aproximación basada en genómica funcional y asociación filogenética. El método consiste en secuenciación de transposones de poblaciones bacterianas expuestas al antibiótico para determinar los genes implicados tanto en sensibilidad como en resistencia, y su filtrado con datos genómicos de una colección global de cepas clínicas. Hemos comprobado la importancia de las vías metabólicas de síntesis de la pared bacteriana en el mecanismo de acción del antibiótico, y además descubierto nuevos genes implicados en el balance redox celular que otorgan resistencia de bajo nivel a la bacteria. Estos resultados pueden emplearse para desarrollar nuevas técnicas diagnósticas o dianas terapéuticas, y el método es aplicable a nuevos antibióticos para predecir futuros determinantes de la resistencia.

En segundo lugar, exploramos la diversidad bacteriana de la tuberculosis en su lugar natural de infección y las dinámicas poblacionales de la resistencia a antibióticos. Hemos analizado muestras de diferentes partes de la lesión pulmonar o granuloma de pacientes de Georgia, un país con alta incidencia de tuberculosis resistente, y detectamos una importante cantidad de infecciones policlonales, es decir, infecciones causadas por más de una cepa diferente de la bacteria. Estas diferentes cepas pueden a su vez ser resistentes a antibióticos distintos, lo que hace esencial poder detectarlas a tiempo para ofrecer al paciente un tratamiento lo más adecuado posible. Las muestras de cirugía nos otorgaron una visión más completa de la diversidad bacteriana que el esputo, la muestra clínica que se toma de rutina, y nos permitieron detectar las infecciones policlonales con mayor precisión. Los datos muestran que estamos subestimando este tipo de infecciones en los países de alta carga de tuberculosis y pueden afectar negativamente al resultado del tratamiento, por lo que en estos entornos sería recomendable un segundo muestreo durante el curso del régimen antibiótico.

Y en tercer lugar, evaluamos el papel de una de las comorbilidades más importantes de la tuberculosis, el VIH, en el desarrollo de resistencias durante las primeras semanas de tratamiento. Para ello, hemos tomado muestras de pacientes de Mozambique con y sin VIH de forma seriada durante el primer mes para analizar cuál es el impacto de la coinfección en las presiones selectivas tanto inmunes como antibióticas. Hemos detectado una mayor diversidad total en los pacientes seronegativos y además, en comparación, los pacientes VIH+ presentan dificultades para eliminar esta diversidad durante las etapas tempranas del

tratamiento que podrían afectar a su éxito. Gracias a la secuenciación profunda, también hemos podido observar una acumulación de variantes en genes relacionados con resistencia, y hemos asociado algunas de ellas a cambios en las CMI (concentraciones mínimas inhibitorias) de las muestras. Estos pequeños cambios durante el primer mes pueden servir como predictores de una menor capacidad para eliminar la diversidad bacteriana, y podrían llegar a indicar un futuro fallo en el tratamiento.

En resumen, en esta tesis nos hemos centrado en entender mejor los factores bacterianos y del hospedador que tienen un impacto en el desarrollo de la tuberculosis resistente a antibióticos y como resultado permitirán desarrollar nuevos diagnósticos y modelos epidemiológicos para controlarla. La secuenciación genómica es una gran herramienta para estudiar éste y otros patógenos en tiempo real, y ofrece la posibilidad de detectar resistencias rápidamente y con una alta certeza en el ámbito clínico. Un correcto diagnóstico asegura un tratamiento adecuado, más corto y exitoso, y además previene la transmisión a nuevos huéspedes. Las técnicas y resultados expuestos aquí contribuyen a lograr estos objetivos y mejorar el control global de la epidemia de tuberculosis resistente.