
Efectos de los antituberculostáticos de primera línea sobre la microbiota intestinal

Modalidad **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

*Trabajo Final de Máster
Máster Universitario de Nutrición y Salud*

Autor/a: Jesús Edison Ospina Valencia
Tutor/a del TFM: Aida Serra Maqueda

21 de Junio de 2021



Esta obra está bajo una licencia de Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada
(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/deed.es>)

Índice

Resumen	5
Abstract	6
1. Introducción	7
2. Objetivos	10
3. Preguntas de Investigación	11
4. Metodología	12
4.1 <i>Criterios de elegibilidad de los estudios</i>	12
4.2 <i>Estrategia de búsqueda</i>	12
4.3 <i>Cribado, extracción de estudios y gestión de datos</i>	13
4.4 <i>Evaluación de la calidad metodológica</i>	14
4.5 <i>Sistema de lectura crítica empleado</i>	14
4.6 <i>Síntesis y análisis de datos</i>	15
4.7 <i>Participación del paciente y del público</i>	15
5. Resultados	16
5.1 <i>General</i>	16
5.2 <i>Características de los estudios</i>	16
5.3 <i>Efectos indeseables más importantes de los fármacos de primera línea en la microbiota intestinal</i>	17
5.4 <i>Permanencia y reparabilidad de los efectos provocados por los fármacos de primera línea en la microbiota intestinal de los pacientes tratados. Homogeneidad o similaridad para el conjunto de antituberculostáticos entre sí</i>	23
5.5 <i>Disminución de la respuesta inmunitaria en el huésped a causa del tratamiento para la TB con antituberculostáticos de primera línea</i>	25
5.6 <i>Riesgo de recaída y recurrencia durante y después del tratamiento por el daño provocado en la microbiota intestinal del paciente tratado para TB con rifampicina, isoniacida, etambutol y pirazinamida</i>	27
5.7 <i>Susceptibilidad a reinfección una vez acabado el tratamiento con fármacos de primera línea, como consecuencia del daño provocado en la microbiota intestinal</i>	27
5.8 <i>La microbiota intestinal y el impacto potencial en la farmacocinética de los medicamentos antituberculosos</i>	28

<i>5.9 Recomendaciones para la reposición de la microbiota intestinal antes, durante y después del tratamiento con antituberculostáticos de primera línea</i>	28
6. Discusión	30
7. Aplicabilidad y nuevas líneas de investigación	35
8. Conclusiones	38
9. Bibliografía	40

Resumen

Objetivo El uso de antituberculostáticos (anti-TB) puede alterar la microbiota intestinal del huésped. Se lleva a cabo una revisión bibliográfica de las investigaciones publicadas sobre los efectos del tratamiento con anti-TB de primera línea en la microbiota intestinal.

Métodos Se realizaron búsquedas en MEDLINE, EMBASE y AMED de artículos publicados entre 2010 y 2020, incluidos todos los diseños de estudios. Se siguieron los elementos de informe preferidos para revisiones sistemáticas, metaanálisis y los métodos estándar de Cochrane. Se utilizó la síntesis narrativa para informar los temas que surgen de los datos.

Resultados Quince artículos mostraron que los anti-TB impactan en la microbiota intestinal provocando disminución de diversidad bacteriana y cambios relativos en las proporciones, efectos que pueden ser distintos, duraderos y facilitar recaídas y reinfecciones. La perturbación del microbioma inducida por anti-TB puede tener efectos significativos sobre las respuestas inmunes periféricas y el tono inmunológico sistémico general. Los efectos más importantes en la microbiota intestinal son atribuibles sobre todo a la rifampicina. Aunque las alteraciones pueden ser reversibles, el tiempo de recuperación puede ser extenso e incompleto. La implementación de probióticos puede mejorar la eficacia de los fármacos anti-TB para tratar la enfermedad y mejorar la inmunidad del huésped.

Conclusiones Existe evidencia de que los anti-TB de primera línea empleados para tratamiento de TB impactan en la composición y diversidad de la microbiota intestinal. Se necesitan estudios poblacionales más amplios para comprender completamente cómo los anti-TB modulan la microbiota y para determinar su impacto en la salud general.

Palabras clave

Revisión, microbiota intestinal, tuberculosis, tratamiento tuberculosis, disbiosis, rifampicina, isoniazida, pirazinamida, etambutol.

Abstract

Objective The use of anti-tuberculosis drugs (anti-TB) can alter the intestinal microbiota of the host. A literature review of published research on the effects of first-line anti-TB treatment on the gut microbiota is carried out.

Methods MEDLINE, EMBASE and AMED were searched for articles published between 2010 and 2020, including all study designs. Preferred reporting elements for systematic reviews, meta-analyses and standard Cochrane methods were followed. Narrative synthesis was used to inform around the themes that emerged from the data.

Results Fifteen articles showed that anti-TB drugs have an impact on the intestinal microbiota, causing a decrease in bacterial diversity and relative changes in the proportions, effects that can be different, long-lasting and facilitate relapses and reinfections. Anti-TB-induced disruption of the microbiome can have significant effects on peripheral immune responses and overall systemic immune tone. The most important effects on the gut microbiota are mainly attributable to rifampicin. Although the alterations can be reversible, the recovery time can be long and incomplete. The implementation of probiotics can improve the efficacy of anti-TB drugs to treat the disease and improve host immunity.

Conclusions There is evidence that first-line anti-TB drugs used for TB treatment impact the composition and diversity of the intestinal microbiota. Larger population studies are needed to fully understand how anti-TB drugs modulate the microbiota and to determine their impact on general health.

Key words

Review, gut microbiota, tuberculosis, tuberculosis treatment, dysbiosis, rifampin, isoniazid, pyrazinamide, ethambutol.

1. Introducción

La tuberculosis (TB) es una enfermedad transmisible y representa una de las 10 principales causas de muerte en todo el mundo, así como la principal causa de muerte por un solo agente infeccioso (por encima del VIH / SIDA) [1]. A nivel mundial, se estima que 10 millones de personas enfermaron de TB en 2019, un número que ha ido disminuyendo muy lentamente en los últimos años. Se calcula que hubo aproximadamente 1,2 millones de muertes por TB entre personas VIH negativas en 2019 (una reducción de 1,7 millones en 2000), y 208.000 muertes adicionales entre personas seropositivas (una reducción de 678.000 en 2000) [1]. Los hombres (≥ 15 años) representaron el 56% de las personas que desarrollaron TB en 2019; las mujeres representaron el 32% y los niños (menores de 15 años) el 12%. Entre todos los afectados, el 8,2% eran personas que vivían con el VIH. Aproximadamente una cuarta parte de la población mundial está infectada por TB [2]. La mayoría de las personas que desarrollan la enfermedad son adultos, hay más casos en hombres que en mujeres y 30 países con una alta carga de TB representan casi el 90% de las personas que enferman de esta patología cada año. La TB es una enfermedad muy prevalente en países de baja renta, y las personas afectadas por la patología a menudo enfrentan dificultades económicas, vulnerabilidad, marginación, estigma y discriminación [2].

Aproximadamente el 85% de las personas que desarrollan la enfermedad pueden ser tratadas con éxito con un régimen de medicamentos de primera línea (rifampicina, isoniazida, etambutol y pirazinamida son los medicamentos considerados de primera línea para el tratamiento de la TB) durante 6 meses [1]. El tratamiento preventivo igualmente está disponible para las personas con infección por TB, con el fin de que no lleguen a desarrollar la patología. El número de personas que desarrollan la TB (y, por lo tanto, el número de muertes), también pueden reducirse mediante acciones multisectoriales que aborden los determinantes de la TB, como la pobreza, la desnutrición, la infección por el VIH, el tabaquismo y la diabetes [1].

Desde hace tiempo se tiene evidencia de que los antibióticos, son empleados anualmente en 4 de cada 10 adultos, 7 de cada 10 niños [3,4] y miles de millones de animales destinados a la alimentación [5]. Los antibióticos son medicamentos esenciales para el tratamiento de muchas infecciones bacterianas y han contribuido a incrementar significativamente la esperanza de vida en el planeta, no obstante, más de un 10% de las personas tratadas con ellos, sufren diferentes efectos adversos [6-8]. Se conoce que estos efectos secundarios, en parte, están relacionados con desajustes en la microbiota intestinal, puesto que de forma simultánea a la eliminación de patógenos, los antibióticos pueden llevar a alteraciones persistentes en la misma [9-13]. Muchos de los cambios provocados por los antibióticos en la microbiota intestinal, están directamente relacionados con el desarrollo de enfermedades como la diarrea, la sepsis, la colitis y un incremento del riesgo para desarrollar enfermedad inflamatoria intestinal, obesidad y un amplio espectro de alergias [14-19]. Se ha observado además que el empleo de antibióticos, también puede provocar un déficit de la proteína antimicrobiana innata Reg 3 γ , que contribuye a disminuir la resistencia contra patógenos resistentes a los antibióticos [20].

Las observaciones e investigaciones llevadas a cabo en este ámbito durante los últimos 30 años, han ido constatando que el uso de antibióticos y la consecuente alteración de la microbiota intestinal, puede afectar ostensiblemente la fisiología del huésped. El empleo de antibióticos puede provocar efectos secundarios no deseados, especialmente las perturbaciones producidas en la microbiota intestinal, que acaban provocando cambios significativos en la función mitocondrial, lo que puede

desembocar en una importante mortalidad de las células del epitelio intestinal. Así lo revelan estudios como el publicado en GUT en 2015 (por Morgun A, *et al*) [21], donde se concluye que las alteraciones intestinales promovidas por antibióticos se pueden explicar gracias a tres factores: i) la fatiga de la microbiota que provoca una regulación a la baja de diversos aspectos de la inmunidad; ii) la afección directa de los antibióticos en los tejidos del huésped y iii) el impacto de los microbios resistentes a los antibióticos restantes; estos dos últimos factores que en el estudio llevado a cabo, inhibieron de forma importante la expresión de genes mitocondriales y el porcentaje de mitocondrias activas, incrementando en consecuencia la muerte de células epiteliales.

Actualmente han ido surgiendo muchos estudios que investigan las perturbaciones de la microbiota intestinal durante el tratamiento con antibióticos para la TB, así como los importantes efectos provocados por la terapia con estos medicamentos, sobre la composición y arquitectura de esta microbiota [22-25]. Aunque los antituberculostáticos (anti-TB) son eficaces para curar la enfermedad y eliminar por completo el *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), la literatura reciente revela la profunda disbiosis que padece la microbiota intestinal, inducida por la terapia con medicamentos anti-TB [23-25]. Se ha observado que los anti-TB de primera línea isoniazida (INH), etambutol (EMB) y pirazinamida (PZA), supuestamente tienen una actividad de espectro estrecho contra las micobacterias, mientras que la rifampicina (RIF) posee un efecto de amplio espectro [26]. Uno de los efectos preocupantes de esta perturbación de la microbiota intestinal ocasionada por fármacos anti-TB es la posibilidad de aumentar la susceptibilidad a una reinfección posterior al alta médica, o al recrudescimiento de la enfermedad después de curarse; y aunque los estudios que han investigado este posible efecto adverso son escasos, Verver *et al.* [27] concluyó que la tasa de prevalencia de TB atribuible a la reinfección, después de un tratamiento exitoso, fue cuatro veces mayor que la de los nuevos casos de TB.

Se ha observado además que la microbiota intestinal juega un importante papel en la farmacocinética de los fármacos, ya que y aunque la síntesis de los ácidos biliares primarios y el metabolismo de los fármacos son funciones fundamentalmente hepáticas, los ácidos biliares secundarios son producidos principalmente por la microbiota intestinal, y existe evidencia que apoya el rol del microbioma intestinal en la modificación de los niveles de expresión de transportadores y enzimas que metabolizan los fármacos [28]. También se ha informado de fluctuaciones importantes en la farmacocinética del EMB, la INH y la PZA en plasma [29,30]; fluctuaciones que se explicaron por variables como la desnutrición, la edad, el VIH y el tratamiento antirretroviral [31,32], factores que entre otras cosas también influyen en la composición de la microbiota intestinal y en consecuencia, es posible que su efecto sobre el metabolismo de los fármacos anti-TB, esté directamente relacionado con las alteraciones que inducen en la microbiota intestinal. En esta misma línea los resultados podrían mostrar que las fluctuaciones en las concentraciones en plasma de los fármacos anti-TB, fuesen una consecuencia directa de la disbiosis de la microbiota intestinal inducida por los propios medicamentos, posibilidad que no debería descartarse teniendo en cuenta los recientes datos sobre la profunda disbiosis del microbioma intestinal inducida por los fármacos anti-TB [23, 24]. Dado este último caso se podría pensar que la suplementación con probióticos orientada a reconstruir la microbiota intestinal durante el tratamiento con antibióticos para la TB, podría mejorar la farmacocinética de los anti-TB y en consecuencia, el resultado del tratamiento, así como garantizar un mejor estado de la respuesta inmunitaria del paciente y un mejor bienestar en su calidad orgánica de vida.

Como se ha podido constatar, existe suficiente evidencia para relacionar el empleo de antibióticos anti-TB con el deterioro de la microbiota intestinal, así como las consecuencias descritas con rigor de ese deterioro. Muchos estudios tras sus

hallazgos coinciden en los aspectos relacionados, otros no tanto. Desde el cambio de milenio, cerca de 50 millones de personas han sido tratadas con este o regímenes similares, que comprenden casi 10 mil millones de dosis de cada medicamento, lo que hace que el tratamiento de la TB sea una de las combinaciones de antibióticos más administradas en el mundo [33]. Comprender los efectos de este régimen de antibióticos en la ecología de la microbiota intestinal tiene, por tanto, importantes implicaciones para las personas tratadas y curadas de TB en todo el planeta.

El presente estudio se propone llevar a cabo una revisión bibliográfica de las investigaciones publicadas en los últimos 10 años, en relación a los efectos provocados en la microbiota intestinal, como consecuencia del tratamiento con anti-TB de primera línea. Los resultados derivados de esta revisión podrían servir, teniendo en cuenta la enorme proporción de personas que enferman de TB cada año en el planeta, y que son potencialmente tratadas con RIF, INH, PZA y EMB, para hacer recomendaciones pertinentes en relación al cuidado y reposición del microbioma intestinal en estos pacientes, y en lo que concierne por tanto, a otros tratamientos más cortos con antibióticos para otras enfermedades infecciosas.

2. Objetivos

Objetivo General

Realizar una revisión sistemática y exhaustiva de los estudios publicados durante los últimos diez años, en revistas indexadas con factor de impacto, en relación a los efectos provocados en la microbiota intestinal de humanos y ratones expuestos a tratamiento con anti-TB de primera línea (RIF, INH, PZA y EMB), y en pacientes humanos tratados para enfermedad de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar, así como aquellos pacientes tratados para quimioprofilaxis primaria (QPP) y quimioprofilaxis secundaria (QPS) o tratamiento de la infección tuberculosa latente (ITL).

Objetivos específicos

1. Aplicar los conocimientos y habilidades adquiridos en las diferentes asignaturas cursadas en el máster.
2. Desarrollar una metodología científica técnica y rigurosamente adecuada.
3. Seleccionar estudios publicados durante los últimos diez años en la literatura indexada, que estén directamente relacionados con el tema diana.
4. Valorar los aspectos diferenciales entre los estudios seleccionados y las fuentes de heterogeneidad que los estudios de base seleccionados presenten.
5. Determinar los efectos indeseables más importantes de los fármacos de primera línea (RIF, INH, PZA y EMB), en la microbiota intestinal de la persona tratada para TB.
6. Determinar si los efectos provocados por los fármacos de primera línea en la microbiota intestinal de los pacientes tratados, son permanentes e irreparables, y si son homogéneos o similares para el conjunto de anti-TB.
7. Determinar si el tratamiento para la TB con RIF, INH, PZA y EMB, disminuye la respuesta inmunitaria del huésped tratado.
8. Analizar y describir si el daño provocado en la microbiota intestinal del paciente tratado para la TB con antituberculostáticos de primera línea, puede incrementar el riesgo de recaída durante y después del tratamiento.
9. Analizar y describir si el daño provocado en la microbiota intestinal del paciente tratado para la TB con RIF, INH, PZA y EMB, puede provocar mayor susceptibilidad a reinfección una vez acabado el tratamiento.
10. Determinar si en los estudios publicados y seleccionados para el objeto de la revisión bibliográfica, se describen recomendaciones para la reposición de la microbiota intestinal antes, durante y después del tratamiento con anti-TB de primera línea.

3. Preguntas de investigación

Pregunta 1

¿Los fármacos de primera línea (RIF, INH, EMB y PZA), empleados para el tratamiento de la tuberculosis (TB), provocan efectos indeseables en el microbioma intestinal de la persona tratada?

Pregunta 2

¿Los fármacos de primera línea, empleados para el tratamiento de la TB, provocan efectos permanentes e irreparables en el microbioma intestinal del huésped?

Pregunta 3

¿El tratamiento para la TB con antituberculostáticos de primera línea disminuye la respuesta inmunitaria del huésped?

Pregunta 4

¿El daño provocado en el microbioma intestinal del paciente tratado para la TB con antituberculostáticos de primera línea, puede incrementar el riesgo de recaída durante el tratamiento?

Pregunta 5

¿El daño provocado en el microbioma intestinal del paciente tratado para la TB con antituberculostáticos de primera línea, puede provocar mayor susceptibilidad a reinfección una vez acabado el tratamiento?

Pregunta 6

¿En los estudios publicados y seleccionados para el objeto de la revisión bibliográfica, se describen recomendaciones para la reposición del microbioma intestinal?

4. Metodología

Se realizó una revisión sistemática de la literatura de los estudios que analizaron los efectos de los anti-TB de primera línea (RIF, INH, PZA y EMB,) en la microbiota intestinal humana de niños, adultos, ancianos y roedores.

4.1 Criterios de elegibilidad de los estudios

Artículos publicados durante el período 2010-2021 que informaran sobre los efectos de los anti-TB de primera línea (RIF, INH, PZA y EMB,) en la microbiota intestinal humana de niños, adultos, ancianos y roedores. Se tuvieron en cuenta los tratamientos anti-TB en humanos tanto para enfermedad de TB, como para quimioprofilaxis primaria (QPP) y quimioprofilaxis secundaria (QPS) o tratamiento de la infección tuberculosa latente (ITL). Un estudio era elegible para revisión si informaba cambios cuantitativos en la microbiota intestinal debido al tratamiento con anti-TB de primera línea prescritos o aplicados en humanos y/o especies murinas (tabla 1).

Se excluyeron los estudios que informaran sobre los efectos en la microbiota intestinal de humanos y roedores de otros antibióticos diferentes a RIF, INH, PZA y EMB. La principal exposición de interés en esta revisión fue el efecto que tienen los anti-TB de primera línea comúnmente recetados para el tratamiento y quimioprofilaxis primaria y secundaria de la TB, según los consejos de prescripción incluidos en las pautas del Instituto Nacional para la Excelencia en la Salud y la Atención (NICE por su sigla en inglés) [34, 35], y en el uso actual como se describe en los informes nacionales sobre el uso de antibióticos [35].

Tabla 1. Criterios para la inclusión y exclusión de estudios

Parámetro	Inclusión	Exclusión
Participantes	Humanos niños, adultos y ancianos. Roedores in vivo	Roedores in vitro
Intervención	Antituberculostáticos de primera línea (RIF, INH, PZA y EMB)	Cualquier otro tipo de antibiótico
Resultados	Cambios en la microbiota intestinal, números totales, diversidad y composición, tiempo necesario de recuperación	Resistencia al antituberculostático
Diseño del estudio	Todos los tipos de diseño	Ninguno

4.2 Estrategia de Búsqueda

Se utilizaron las bases de datos electrónicas MEDLINE, EMBASE y AMED, Registro Cochrane Central de Ensayos Controlados y Registro de Ensayos especializados de Cochrane con antibióticos y microbiota intestinal, para identificar artículos relevantes entre enero de 2010 y diciembre de 2020, en inglés y disponibles como texto completo. La estrategia de búsqueda no estuvo limitada por el idioma y fue diseñada para identificar estudios realizados en cualquier país, investigando cambios inducidos por anti-TB de primera línea en la microbiota intestinal humana y de roedores, analizados a nivel individual o poblacional (Cuadro 1). Se realizaron búsquedas

manuales en las listas de referencias de los estudios incluidos y las revisiones relevantes para identificar estudios elegibles adicionales.

La búsqueda se completó para todos los tratamientos con fármacos anti-TB de primera línea y sus efectos en la microbiota intestinal. Las palabras y los términos de búsqueda (tanto en texto libre como en encabezados de temas médicos), empleados específicamente para la revisión sistemática de anti-TB y efectos en la microbiota intestinal incluyeron: first-line antituberculosis drugs, rifampicin, isoniazid, pyrazinamide, ethambutol, gut microbiota, intestinal dysbiosis, “Mtb AND microbiome”, “Mtb AND microbiota”, “microbiota AND antimicrobianos”, “Mtb AND antimicrobianos * microbiota”, “Microbiota AND rifampicin”, “Microbiota AND isoniazid”, “Microbiota AND pyrazinamide”, “Microbiota AND ethambutol”. Los duplicados se eliminaron con la ayuda del administrador de referencias de Mendeley.

Las citas de los estudios se recopilaron en una única base de datos. Todos los resúmenes y artículos relevantes se recuperaron de la selección inicial de títulos para una mejor evaluación de la elegibilidad. Posteriormente se realizó una búsqueda recursiva de la bibliografía de todos los ensayos y artículos relevantes identificados por la estrategia de búsqueda electrónica. Para obtener estudios adicionales se realizaron búsquedas en los resúmenes de DDW (Double Data Word) y UEGW (United European Gastroenterology Week) 2010-2020. Se estableció contacto con expertos en el campo de la TB y el sistema digestivo para identificar otros estudios.

Cuadro 1. Estrategia de búsqueda

1. Antituberculostáticos de primera línea
2. Rifampicina, isoniazida, pirazinamida, etambutol
3. Microbiota intestinal
4. (Microbioma o microbiomas o microbioma intestinal o microbiomas intestinales o Microbiota Gut o microbiota)
5. Humanos/ratones
6. 1 o 2
7. 3 o 4
8. 6 y 7
9. 5 y 8

4.3 Cribado, extracción de estudios y gestión de datos

Todas las decisiones se registraron en una hoja de cálculo. Se obtuvieron los artículos de texto completo de todos los estudios elegibles.

Se extrajeron los siguientes datos de los estudios incluidos en una hoja de cálculo de Excel: autor, revista, año de publicación, diseño del estudio, país del estudio, número de participantes, número de participantes de interés para esta revisión, rango de edad, porcentaje de hombres y mujeres participantes, porcentaje de murinos participantes, criterios de inclusión, criterios de exclusión, métodos de reclutamiento, período de tiempo de reclutamiento, tipo de muestra, resultado primario, resultado secundario, antibiótico (de interés para esta revisión) usado, cualquier otro antibiótico utilizado, dosis de antibióticos (del antibiótico de interés para esta revisión), curso temporal (del antibiótico de interés para esta revisión), número de puntos temporales para la recogida de muestras, puntos temporales para cada recogida de muestras, método de

prueba, conclusión general, tipo de TB, tipo de quimioprofilaxis. Se desarrolló un resumen tabular para esta revisión, que incluyó el ID del estudio, el país, el diseño, la población, el entorno, la infección, el antibiótico de interés, la muestra y el análisis, el resultado primario y los resultados principales.

4.4 Evaluación de la calidad metodológica

Se calificó cada componente de los estudios (es decir, la idoneidad del diseño del estudio para la pregunta de investigación, el riesgo de sesgo de selección, la medición de la exposición y la evaluación de resultados), y se utilizó una calificación general para producir gráficos de evaluación de la calidad basados en un sistema de semáforo de "bajo", "alto" y "poco claro" o "no aplicable", según lo recomendado por Cochrane [36]. Se evaluó el riesgo de sesgo en todos los estudios y las discrepancias se resolvieron teniendo en cuenta la idoneidad de los estudios par el objetivo fundamental de la revisión bibliográfica.

4.5 Sistema de lectura crítica empleado

Para la lectura crítica del corpus de literatura científica seleccionada, se siguió un proceso sistemático de búsqueda de fortalezas y debilidades de los artículos con el fin de evaluar la utilidad y validez interna (robustez del diseño de investigación de artículo), y la validez externa (aplicabilidad de los resultados del estudio en el entorno) de los mismos, en función al objetivo general planteado. Los pasos para la lectura, comprensión y filtrado de los artículos científicos fueron los siguientes:

1. Se tuvieron en cuenta los diseños de los estudios, teniendo claras las diferencias entre los diseños descriptivos y los analíticos, y sobre todo conociendo sus limitaciones, lo que nos permite evaluar con mayor facilidad la calidad de los estudios.
2. Análisis de los títulos. Para determinar si el artículo se ciñe a lo que se busca.
3. Revisión superficial de los artículos. Lectura rápida para fijarnos en detalles importantes más que en el contenido de cada artículo. Además del título, la fecha en que fue escrito, los nombres de los autores, las secciones, los gráficos e imágenes.
4. Análisis del resumen o abstract, donde se explica el contenido del artículo de manera sintética y se describen al final las palabras clave que nos proporcionan información sobre los puntos cardinales del artículo.
5. Lectura comprensiva del artículo. Nos permite obtener una visión global del tema y de cómo se ha estudiado: diseño de investigación elegido, metodología aplicada, exposición de los resultados, argumentación de las conclusiones. Aquí se verifica si la estructura del artículo es la adecuada y sigue el esquema IMRC (introducción, material, método, resultado y conclusiones). Revisión de la bibliografía (adecuación al estilo y antigüedad).
6. Resolución de dudas. Con el fin de aclarar aspectos de los artículos que no se comprendan (metodología empleada, análisis estadístico, etc.), con el fin de poder hacer una evaluación rigurosa.
7. Lectura detenida de los artículos. Para resumir las ideas principales y poner el foco de atención en los puntos claves de los estudios (tipo de diseño, sujetos y sus criterios de inclusión y exclusión, tamaño de la muestra, control de sesgos, variables estudiadas). Para ello se han empleado listas de verificación o check list, que ayudan a guiar en relación a los aspectos metodológicamente más relevantes a la hora de evaluar los estudios.

8. Reflexión crítica sobre lo leído. Mediante la lectura detenida y con la ayuda de las parrillas de verificación, se obtuvo la información necesaria y suficiente para sacar las conclusiones en torno a calidad, validez, sesgos, aplicabilidad, entre otros.

4.6 Síntesis y análisis de datos

Los resultados se discuten de forma descriptiva.

4.7 Participación del paciente y del público

Esta investigación se realizó sin la participación de los pacientes ni los murinos intervenidos.

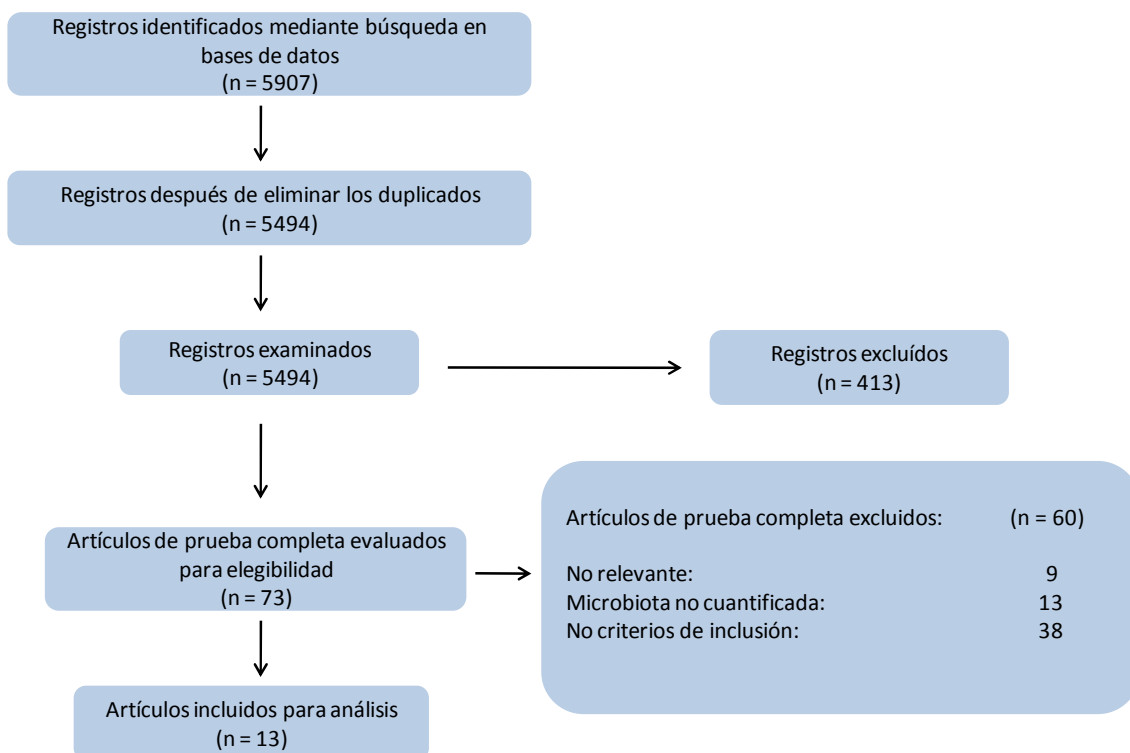
5. Resultados

5.1 General

La estrategia de búsqueda inicial para todos los artículos relacionados con microbiota intestinal y antibióticos para el tratamiento de la TB, presentó 5907 resultados. De ellos, 5834 fueron excluidos después de la selección de títulos y resúmenes concernientes al tema de interés. Se recuperaron 73 artículos en texto completo y después de valorar los aspectos diferenciales y las fuentes de heterogeneidad presentadas entre ellos, 13 cumplieron con los criterios de elegibilidad para la inclusión. Se excluyeron 60 artículos que aunque trataban directamente el tema de microbiota intestinal y TB, no lo hacían desde la perspectiva específica del centro de interés de la revisión bibliográfica (Figura 1).

Las fechas de publicación variaron de 2010 a 2020. Los estudios midieron y expusieron los efectos sobre la microbiota intestinal después de la exposición en humanos a tratamiento y exposición experimental de murinos con anti-TB de primera línea (RIF, INH, PZA y EMB).

Figura 1. Elementos de informe preferidos para revisiones sistemáticas y diagrama de flujo para la selección de estudios.



5.2 Características de los estudios

En la revisión bibliográfica se incluyeron finalmente cinco revisiones bibliográficas [40, 43, 45, 49, 50], tres estudios prospectivos y de casos control (2 en ratones y 1 en humanos) [24, 37, 41], 2 estudios de inscripción transversal en humanos [62, 22], 1

estudio de cohorte longitudinal con humanos [38], y 2 estudios clínicos longitudinales pre-post en humanos [23, 33].

5.3 Efectos indeseables más importantes de los fármacos de primera línea en la microbiota intestinal

Los estudios analizados emplearon diferentes metodologías para explorar el efecto de los anti-TB en la microbiota intestinal. Describieron que mientras que la INH, el EMB y la PZA tienen una actividad de espectro estrecho contra las micobacterias, la RIF tiene un efecto de amplio espectro. No obstante concluyeron que el tratamiento previo con anti-TB de espectro reducido, también altera el metabolismo y la función de los macrófagos alveolares. Todos los estudios han sido consistentes en demostrar que aunque los anti-TB de primera línea son eficaces para matar *Mtb*, provocan una profunda disbiosis del microbioma intestinal inducida por la terapia con los mismos. Esta disbiosis es rápida y produce pérdidas de diversidad y cambios en la abundancia de microbios intestinales, perturbando el microbioma intestinal de formas distintas y duraderas [22, 23, 24, 33, 37, 38, 40, 41, 43, 45, 49, 50, 62].

Dos estudios llevados a cabo en ratones [24, 37] caracterizaron los efectos inmediatos y a largo plazo, del tratamiento de la TB con HRZE sobre la diversidad microbiana, la composición taxonómica y la capacidad bioquímica, demostrando mediante secuenciación de ADN metagenómico y 16S, los efectos disruptivos sustanciales y únicos de la terapia HRZE en la composición del microbioma intestinal, concluyendo que la disbiosis microbiómica intestinal duradera es una consecuencia del tratamiento de la TB. Ambos estudios mostraron que el tratamiento en ratones con una combinación de INH y PZA o RIF sola, alteró significativamente el microbioma intestinal, que el tratamiento con INH/PZA amplió la abundancia de *Bacteroidetes* y que la rifampicina agotó la población de *Firmicutes* al tiempo que aumentó la abundancia de *phyla* de *Verrucomicrobia* y *Bacteroidetes*.

En relación a la acción combinada de HRZE, ocho estudios [22, 23, 24, 33, 37, 38, 41, 62], observaron que los efectos de los antibióticos de amplio espectro en el microbioma intestinal son más drásticos que los antibióticos de espectro estrecho como la INH, la PZA y el EMB; mientras que la RIF es el único antibiótico antituberculoso de primera línea de amplio espectro, y que aunque INH y PZA redujeron la abundancia relativa de las especies del microbioma intestinal de manera significativa en los estudios con murinos, las especies afectadas no fueron micobacterias. No obstante, RIF, produjo mayores cambios disbióticos intestinales (en términos de abundancia y diversidad).

Dos estudios llevados a cabo uno en humanos y otro en ratones [23, 24], produjeron resultados similares. En estos estudios se demostró que la exposición a HRZE redujo géneros pertenecientes a *Clostridiales*, como *Ruminococcus spp.*, *Ruminococcus gnavus* y *Faecalibacterium spp.*, Mientras que los miembros de *Bacteroidetes*, como *Bacteroides spp.* (*B. fragilis*, *B. plebeius*, *B. caccae* y *B. coprophilus*) y *Parabacteroides distasonis*, se enriquecieron significativamente.

Shikha Negi *et al.* [37], observaron que la terapia con medicamentos para la TB, modula el perfil de la comunidad microbiana intestinal del huésped y la inmunidad, provocando cambios en el perfil microbiano intestinal con abundancia de *Enterococcus* y reducción de la población de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Observaron además, que los tratamientos con INH reducen el nivel de IFN- γ en pacientes con TB y que la apoptosis de células T inducida por INH, es responsable de la reinfección y reactivación de *Mtb*. Demostraron que los ratones infectados con *Mtb* y expuestos a INH mostraron una reducción significativa de la población de *Lactobacillus* ($p < 0,01$),

Bifidobacterium ($p < 0,001$) (conocidos ambos por sus propiedades inmunomoduladoras beneficiosas) y *Campylobacter* ($p < 0,05$); y por el contrario, la población de *Bacteroides* ($p < 0,01$) y *Enterococcus* ($p < 0,01$) se incrementó ostensiblemente. En consecuencia, observaron que la reducción de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* disminuyó significativamente el nivel de proliferación y generación de células T de memoria, disminuyendo de forma importante el nivel de transcripciones de estas citoquinas.

Wenpei Shi, *et al.* [38], confirmaron que los pacientes sometidos a tratamiento anti-TB de primera línea, sufrieron reacciones adversas gastrointestinales y disfunción hepática, lo que dañó directamente la mucosa intestinal y condujo a una reducción de la absorción del fármaco y del metabolismo hepático, como ya lo habían demostrado Becattini S, *et al.* [39]. De igual forma observaron reducción de la diversidad bacteriana y perturbación de las estructuras de la comunidad microbiana, en pacientes tratados con HRZE, en comparación con individuos sanos como ya Wipperman MF, *et al.* [23] y Hong BY, *et al.* [40], lo habían demostrado en su momento.

En el estudio realizado por Yongfeng Hu, *et al.* [22], observaron en sus resultados que las infecciones por Mtb tanto activas como latentes indujeron solo cambios menores en la microbiota intestinal, mientras que la terapia anti-TB condujo a una rápida alteración en la microbiota una semana después del tratamiento. La α diversidad microbiana intestinal se redujo significativamente y la estructura general de la composición de la microbiota intestinal fue significativamente distinta antes y después de la terapia anti-TB. Este mismo estudio demostró que los antibióticos anti-TB causaron una alteración significativa en la diversidad, la estructura comunitaria y la composición de la microbiota intestinal. Aunque en este estudio no se investigó la disbiosis después del cese de la terapia antituberculosa, las alteraciones inducidas por los fármacos antituberculosos de primera línea, probablemente duraron mucho tiempo, como se describe en otros estudios [23,24].

El estudio de Weiran Li, *et al.* [41], mostró que aunque el índice de Shannon no indicó una diferencia significativa en la diversidad microbiana intestinal entre los dos grupos comparados (niños con TB pulmonar (TBP) y niños sanos), una disminución del índice de Simpson reflejó que la diversidad de la microbiota fecal en los pacientes con TBP era significativamente menor que en los niños sanos ($0,80 \pm 0,20$ VS $0,93 \pm 0,04$, $p < 0,05$). Los resultados de este estudio demostraron que los patrones de microbiota intestinal en pacientes con TBP eran significativamente diferentes de los de los controles sanos. La disbiosis de la microbiota intestinal en pacientes con TBP se caracterizó específicamente por una regulación positiva de la bacteria proinflamatoria *Prevotella* y el patógeno oportunista *Enterococcus*. Además, se observó una reducción de las bacterias beneficiosas *Ruminococcaceae*, *Bifidobacteriaceae* y *prausnitzii*. Este estudio también reveló que después de un mes de terapia eficaz contra la TB, la riqueza de la microbiota fecal se reduce de manera similar. Los resultados de este estudio indicaron que la diversidad de la microbiota intestinal en los pacientes con TBP generalmente está disminuida, lo que fue demostrado por el valor del índice de Simpson descendente, hallazgo similar revelado en algunos estudios experimentales con animales [24, 42]. Los resultados de este estudio reflejaron una sobrerrepresentación significativa de *Prevotella*, *Enterococcaceae* y *Enterococcus* en pacientes con TBP en comparación con controles sanos, al mismo tiempo que *F. ruminococcaceae* y *F. prausnitzii*, pertenecientes al género *Faecalibacterium*, fueron significativamente menores en el grupo de PTB que en los controles sanos. De igual manera se reportó una reducción significativa de la riqueza de la microbiota intestinal en pacientes con TBP después de un mes de tratamiento antituberculoso, hallazgo que está respaldado por la investigación realizada por Namasivayam, *et al.* [24], que

logró resultados similares en ratones después del tratamiento antituberculoso, en los que la riqueza de la microbiota intestinal de los ratones disminuyó de manera similar.

En su revisión Ronan F. O'Toole, Sanjay S. Gautam [43] describen que cuando Namasivayam y sus colegas [24], examinaron si la administración de fármacos antituberculosos afectaba la diversidad microbiana intestinal en su modelo de ratón de infección pulmonar por Mtb, observaron que el tratamiento combinado con INH, RIF y PZA resultó en una disminución inmediata de los índices de diversidad microbiana de Chao1 y Shannon durante las dos primeras semanas de tratamiento, lo que fue seguido por una recuperación posterior a los niveles de ratones ingenuos para el índice de Shannon. Comentan además que Namasivayam y su equipo [24], compararon la estructura general de la comunidad microbiana en ratones sin tratamiento previo, ratones infectados con Mtb (TB) y ratones infectados con Mtb tratados con (TB + HRZ), y descubrieron que el tratamiento con HRZ se asoció con una disminución significativa de la abundancia relativa de géneros bacterianos pertenecientes a la clase *Clostridia* del filo *Firmicutes* en el microbioma intestinal de los ratones, que se mantuvo en todos los puntos de tiempo y hasta 3 meses después de la interrupción del tratamiento con HRZ, y que el tratamiento con HRZ se correlacionó con un aumento en géneros específicos de los *phyla Bacteroidetes* y *Proteobacteria* [24]. Namasivayam y sus colegas demostraron que la disbiosis en el microbioma intestinal del ratón era principalmente una consecuencia de la administración del antibiótico de amplio espectro, RIF, pero no de los fármacos de espectro estrecho INH o PZA solas [24].

Ronan F. O'Toole, Sanjay S. Gautam [43], también describen en su revisión que en relación al efecto del tratamiento de la TB en el microbioma intestinal, Wipperman y los co-investigadores habían examinado recientemente el microbioma en personas que no estaban infectadas con *M. tuberculosis*, tenían una infección de TB latente (LTBI), estaban curadas de LTBI, estaban sometidas a HRZ estándar más tratamiento con EMB (HRZE) para la TB activa, o que fueron tratados con éxito para la TB activa [23], encontrando que la diversidad general del microbioma intestinal de los sujetos tratados por TB activa con HRZE no difería significativamente de la de los controles de Mtb no infectados o LTBI, según lo medido por el índice de diversidad de Shannon. Sin embargo, hubo una pérdida significativa de taxones bacterianos específicos con el tratamiento de la TB. En el estudio de Wipperman [23], el tratamiento con HRZE se asoció con una disminución de 10 veces en *Blautia*, una disminución >200 veces en *Lactobacillus* y *Coprococcus*, y una reducción >600 veces en *Ruminococcus*, del *phylum Firmicutes*, en comparación con el grupo LTBI, y que la disbiosis en el microbioma intestinal persistió en los pacientes curados hasta 1,2 años después de la finalización del tratamiento [23].

Wipperman MF *et al.* [23], compararon la composición del microbioma, evaluada mediante secuenciación del ADNr 16S y del ADN metagenómico, de los casos de TB durante el tratamiento antimicobacteriano con HRZE y después de la curación con 6 meses de antibióticos. Encontraron que aunque el tratamiento de la TB no perturbó la diversidad general, agotó drásticamente múltiples bacterias comensales inmunológicamente significativas. El estudio de Wipperman y sus colegas [23], presentó la primera caracterización de los efectos a corto y largo plazo del tratamiento estándar con antibióticos HRZE TB sobre el microbioma intestinal, y reveló que las personas curadas redujeron en los géneros *Bacteroidetes Bacteroides* y mostraron una sobreabundancia prominente de *Faecalibacterium*, *Eubacterium* y *Ruminococcus*, reconociendo, al igual que en el estudio de Becattini S, *et al.* [39], que los antibióticos perturban la composición del microbioma intestinal y su uso está asociado con consecuencias potencialmente perjudiciales. Los hallazgos observados en el estudio de Wipperman, *et al.* [23], indicaron que aunque el estrecho espectro del régimen de

tratamiento de la TB se refleja en la diversidad general conservada en los casos tratados con HRZE, lo más dramático fue el agotamiento de múltiples especies de *Ruminococcus*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* y *Bacteroides* junto con un aumento simultáneo de *Erysipeloclostridium* y *Prevotella*. *Ruminococcus* y *Coprococcus* son dos de los *phyla* más drásticamente agotados en pacientes tratados con HRZE, estos organismos modulan la producción de citoquinas periféricas, incluidas IL-1 e IFN γ 26. De manera similar, *Bifidobacterium*, que se encontró agotado en los casos tratados con HRZE, puede inducir una respuesta inmune Th17 en ratones [44]. Estos hallazgos han sido corroborados por el estudio de Namasivayam, S. *et al.* [24], que examinó el efecto del tratamiento de la TB en ratones. Durante el tratamiento con HRZ en ratones, observaron una disminución en la riqueza de especies, similar a la disminución significativa en el número de OTU (unidad taxonómica operativa) durante el tratamiento con HRZE en humanos. Encontraron que RIF fue el principal impulsor de la alteración taxonómica en el microbioma intestinal, no obstante la terapia de combinación da lugar a alteraciones que no se encuentran para la monoterapia de ningún antibiótico individual. Se observó que tanto en ratones como en humanos, hubo una disminución significativa en el número de *Clostridia* durante el tratamiento, incluidos los géneros *Blautia*, *Clostridium* y *Roseburia*.

Namasivayam *et al.* [24], encontraron que el tratamiento con HRZ si bien indujo solo una disminución transitoria de la diversidad microbiana, provocó una marcada alteración inmediata y reproducible en la estructura de la comunidad que persistió durante todo el curso de la terapia y durante al menos 3 meses después de su cese. Los miembros del orden *Clostridiales* se encontraban entre los taxones que disminuyeron en frecuencias relativas durante el tratamiento y la familia *Porphyromonadaceae* aumentó significativamente después del tratamiento. En este estudio los experimentos que compararon la monoterapia y diferentes terapias combinadas, identificaron a la RIF como el principal impulsor de las alteraciones observadas inducidas por el cóctel HRZ, pero también revelaron efectos inesperados de INH y PZA en determinadas combinaciones de fármacos, revelando que los antibióticos utilizados en el tratamiento convencional de la TB inducen una disbiosis distinta y duradera. El estudio reveló que los cambios observados son el resultado de la acción sinérgica de los diferentes componentes del cóctel de antibióticos, y que la RIF tiene el efecto más profundo sobre el resultado del tratamiento, provocando una disbiosis muy definida en la flora intestinal, que constituye una secuela muy importante de la terapia convencional contra la TB. El estudio de Namasivayam *et al.* [24], reveló una significativa reducción de las frecuencias relativas de los géneros *Acetivibrio*, *Robinsoniella*, *Alkaliphilus*, *Stomatobaculum*, *Butyricoccus*, *Acetanaerobacterium*, *Tyzzarella*, *Ruminococcus* y *Peptococcus*, todos pertenecientes a la clase *Clostridia* del filo *Firmicutes*, y se evidenciaron disminuciones adicionales en géneros, en su mayoría pertenecientes a la clase *Clostridia*. A las 2 semanas posteriores al tratamiento, los cambios en la composición bacteriana debidos a la administración de antibióticos, se estabilizaron y persistieron con fluctuaciones menores durante el resto del período de tratamiento. Estos cambios consistieron en un aumento transitorio en el género *Akkermansia* en W12 y W20 y aumentos en los géneros *Barnesiella*, *Paraprevotella*, *Bifidobacterium* y *Porphyromonas* del phylum *Bacteroidetes* y ciertos miembros del phylum *Actinobacteria*. Las observaciones revelaron en conjunto, que el tratamiento con fármacos antituberculosos convencionales provoca una disminución transitoria de la diversidad de la microbiota intestinal, junto con cambios fluctuantes y persistentes en su composición, y que esta disbiosis no parece estar influenciada por la presencia o ausencia de ITL. Los hallazgos indicaron también que la terapia antituberculosa, desencadena una disbiosis que mantiene su estructura de composición básica mucho después de la interrupción del tratamiento con antibióticos, a pesar de las alteraciones en ciertos taxones. Así mismo se observó que RIF pero no INH ni PZA causó una disminución en la diversidad bacteriana en ratones no

infectados que fue comparable a la desencadenada por el cóctel HRZ completo. De manera similar se observó que RIF solo indujo cambios de composición importantes en la microbiota, pero estas alteraciones fueron distintas en términos de los taxones específicos afectados y/o su magnitud de los observados después del tratamiento HRZ. Al examinar los efectos de la administración dual de antibióticos, los pares de fármacos en los que RIF era uno de los socios, indujeron las únicas disminuciones significativas en la diversidad. El tratamiento HRZ no afectó significativamente los niveles de *Brenneria* (Enterobacteria), mientras que este género mostró un aumento significativo después del tratamiento dual RIF/PZA (y en menor medida INH/RIF). Ni RIF ni PZA por sí solos provocaron un aumento significativo de enterobacterias. Los experimentos llevados a cabo en el estudio, indicaron que cada uno de los componentes antibióticos del cóctel HRZ contribuye a la disbiosis general que se produce después del tratamiento farmacológico de ratones no infectados, teniendo RIF y PZA los efectos más destacados. Los estudios longitudinales llevados a cabo sobre la microbiota de las heces demostraron que el tratamiento de ratones infectados con Mtb con HRZ utilizando un régimen similar al empleado en pacientes, da como resultado una pérdida rápida pero transitoria de la diversidad bacteriana, así como alteraciones persistentes en la composición del microbioma, que no se recuperan después del cese de la terapia. Estos cambios son en gran medida independientes de la propia infección por micobacterias y dependen de los efectos combinados de los diferentes componentes en el cóctel triple de antibióticos. Al comparar los efectos individuales de cada fármaco sobre la microbiota en relación al cóctel HRZ, se observó que tanto la INH como la PZA, que son profármacos, provocaron disminuciones estadísticamente significativas en la abundancia relativa de especies sin una relación filogenética obvia con las micobacterias a las que están destinadas. También se observó que el cóctel RIF/PZA indujo alteraciones en la microbiota que superaron las desencadenadas por INH/RIF/PZA.

Osagie A. Eribo y colaboradores [45], encontraron que en algunos estudios se observó que los macrófagos alveolares aislados de animales tratados con INH/PZA, mostraron una capacidad respiratoria de reserva disminuida, respiración basal y producción de ATP y fueron más tolerantes al crecimiento de Mtb. Además, la producción de interleucina (IL) -1-beta (β) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), junto con la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHCII) disminuyó significativamente después de la infección por Mtb. Otro hallazgo de este estudio fue que la transferencia adoptiva de macrófagos alveolares infectados con Mtb de los animales tratados con INH/PZA, aumentó significativamente la carga de Mtb en ratones receptores.

Hu y col. [46], describieron la comunidad de microbiota intestinal de pacientes con TB pulmonar versus controles sanos e identificaron cambios significativos en la composición de la microbiota y las vías metabólicas asociadas. Identificaron una abundancia diferencial de 25 microbiotas entre las cohortes de TB y control. Dos especies bacterianas se enriquecieron en pacientes con TB, mientras que 23 fueron abundantes en controles sanos. Entre las especies bacterianas que abundaban en las cohortes de control, nueve eran microbiota intestinal que producen AGCC como propionato, butirato, acetato y lactato. Incluyen; *Ruminococcus obeum*, *Bifidobacterium longum*, *Roseburia intestinalis*, *Roseburia inulinivorans*, *Coprococcus comes*, *Akkermansia muciniphila*, *Eubacterium rectale*, *Bifidobacterium adolescentis* y *Roseburia hominis*.

Sivaranjani Namasivayam *et al.* [33], observaron que ambos grupos infectados con TB después de tratamiento antituberculostático (ATT), con (MAF (*Mycobacterium africanus*) + HRZE y MTB (*mycobacterium tuberculosis*) + HRZE), mostraron una diversidad de microbiota disminuida en comparación con los controles sanos no

tratados. Sin embargo, las diversidades alfa de los dos grupos TB-ATT no difirieron entre sí. De manera similar, los análisis de agrupamiento de diversidad beta revelaron que el tratamiento con HRZE causó una alteración significativa en la estructura de la comunidad de la microbiota solo en comparación con los controles sanos. Además, se observó que la estructura de la comunidad bacteriana era similar entre los dos grupos de pacientes infectados y tratados con TB. Tomados en conjunto, estos hallazgos indican que ATT causa una perturbación heterogénea en el microbioma intestinal en pacientes infectados con MAF y MTB con los cambios más significativos y consistentes que se manifiestan como disminuciones dentro del filo *Proteobacteria*. Aunque en la mayoría de los pacientes el tratamiento con HRZE dio como resultado una disminución en la abundancia relativa de proteobacterias, el análisis reveló una considerable heterogeneidad interindividual en los cambios observados en la microbiota después de la ATT. Tanto los pacientes infectados con MAF como con MTB mostraron diferencias en comparación con los controles sanos en la composición de su microbiota intestinal. En ambos grupos de pacientes con TB, se observó una tendencia hacia una mayor proporción de *Firmicutes* a *Bacteroidetes* en relación con los participantes sanos del estudio. También observaron niveles más bajos de *Prevotellaceae* en pacientes infectados con MTB y esta disminución estuvo ausente en pacientes infectados con MAF. En conjunto, estas observaciones en sujetos humanos apoyan la conclusión de estudios previos en modelos murinos de que la infección por MTB solo causa alteraciones menores en el microbioma intestinal. En este estudio también se observó una tendencia correlativa positiva entre la abundancia relativa de *Enterobacteriaceae* y la expresión de genes inflamatorios en la sangre completa del huésped de pacientes infectados con MAF. También es de interés que los niveles de proteobacterias se redujeron después de ATT. Si bien esta disminución puede ser simplemente el resultado de la acción directa de los antibióticos sobre las proteobacterias, las reducciones observadas también podrían reflejar el efecto previamente descrito de la ATT en la reducción de la expresión del gen inflamatorio del huésped, como lo describieron Bloom CI, *et al.* [47], que podría afectar indirectamente los niveles de proteobacterias.

Sivaranjani Namasivayam, *et al.* [33], también establecieron que el tratamiento con antibióticos induce cambios paralelos en la microbiota intestinal de pacientes infectados con MAF y MTB. En su modelo de ratón, mostraron que la terapia de primera línea contra la TB, consistente en dos meses de INH, RIF, PZA y cuatro meses de INH/RIF (2INH-RIF-PZA / 4RIF-INH), altera profundamente el microbioma intestinal, generando una disbiosis duradera después de la interrupción del tratamiento [24]. Se han informado alteraciones similares en estudios transversales de pacientes con TB, con la disbiosis resultante que dura más de un año después de la conclusión de la terapia [23, 48]. Encontramos que los pacientes infectados con MAF mostraban una diversidad de microbiota disminuida y niveles elevados de ciertos taxones, en comparación con los pacientes infectados con MTB y los controles sanos. Sin embargo, la terapia antituberculosa dio como resultado alteraciones similares en la composición de la microbiota en los grupos infectados con MAF y MTB.

En la revisión llevada a cabo por John Osei Sekyere, Nontuthuko E. Maningi, y Petrus B. Fourie [50], se concluye al igual que en otros estudios realizados [23, 24], que el principal enemigo del microbioma, los antimicrobianos, siguen siendo el factor principal y más potente que causa disbiosis, no solo en plantas, animales y humanos, sino también en el medio ambiente, ya que destruyen indiscriminadamente todas las bacterias, tanto útiles como dañinas, y que los efectos sobre el microbioma son tales que la disbiosis puede persistir durante más de un año, afectando la diversidad y abundancia relativa del microbioma intestinal.

5.4 Permanencia y reparabilidad de los efectos provocados por los fármacos de primera línea (RIF, INH, EMB y PZA) en la microbiota intestinal de los pacientes tratados. Homogeneidad o similaridad para el conjunto de antituberculostáticos entre sí

Wenpei Shi, *et al.* [38], confirmaron que los pacientes sometidos a tratamiento anti-TB de primera línea, sufrieron reacciones adversas gastrointestinales y disfunción hepática, lo que dañó directamente la mucosa intestinal y condujo a una reducción de la absorción del fármaco y del metabolismo hepático, como ya lo habían demostrado Becattini S, *et al.* [39]. De igual forma observaron reducción de la diversidad bacteriana y perturbación de las estructuras de la comunidad microbiana, en pacientes tratados con HRZE, en comparación con individuos sanos como ya Wipperman MF, *et al.* [23] y Hong BY, *et al.* [40], lo demostraron en su momento.

Los experimentos llevados a cabo en el estudio de Sivaranjani Namasivayam *et al.* [24], indicaron que cada uno de los componentes antibióticos del cóctel INH-RIF-PZA, contribuye a la disbiosis general que se produce después del tratamiento farmacológico de ratones no infectados, teniendo RIF y PZA los efectos más destacados. Los estudios longitudinales llevados a cabo sobre la microbiota de las heces demostraron que el tratamiento de ratones infectados con Mtb con HRZ, utilizando un régimen similar al empleado en pacientes, da como resultado una pérdida rápida pero transitoria de la diversidad bacteriana, así como alteraciones persistentes en la composición del microbioma, que no se recuperan después del cese de la terapia. Después del tratamiento con antibióticos, la composición generalmente vuelve a un estado de pretratamiento similar en varias semanas, pero no en todos los casos. Estos cambios son en gran medida independientes de la propia infección por micobacterias y dependen de los efectos combinados de los diferentes componentes en el cóctel triple de antibióticos. Al comparar los efectos individuales de cada fármaco sobre la microbiota en relación al cóctel HRZ, se observó que tanto la INH como la PZA, que son profármacos, provocaron disminuciones estadísticamente significativas en la abundancia relativa de especies sin una relación filogenética obvia con las micobacterias a las que están destinadas. También se observó que el cóctel RIF/PZA, indujo alteraciones en la microbiota que superaron las desencadenadas por INH/RIF/PZA.

Wipperman MF *et al.* [23], compararon la composición del microbioma, evaluada mediante secuenciación del ADNr 16S y del ADN metagenómico, de los casos de TB durante el tratamiento antimicobacteriano con HRZE y después de la curación con 6 meses de antibióticos. Encontraron que aunque el tratamiento de la TB no perturbó la diversidad general, agotó drásticamente múltiples bacterias comensales inmunológicamente significativas. Concluyeron que la perturbación microbiómica de la terapia antituberculosa puede persistir durante al menos 1, 2 años, lo que indica que los efectos del tratamiento antituberculoso son duraderos. Aunque el estado ecológico del microbioma previo al tratamiento generalmente se recupera después de suspender el tratamiento con antibióticos, existen efectos notables que pueden persistir durante semanas, meses e incluso años después de suspender el tratamiento, como lo demostraron Jernberg C y col. [51]. Y aunque estos son solo algunos ejemplos, el modelo actual es que el tratamiento con antibióticos puede resultar en el establecimiento de un estado alternativo, que podría tener consecuencias sistémicas y potencialmente perjudiciales para la inmunidad y la susceptibilidad a la enfermedad [52]. Evidencia convincente sugiere que los datos presentados anteriormente, indican claramente que el tratamiento con HRZE induce una perturbación microbiómica detectable, que podría ser de larga duración dada la duración prolongada de la exposición a los antibióticos, como concluyeron en su estudio Matthew F. Wipperman y col. [23].

El otro hallazgo destacado del estudio de Matthew F. Wiperman y col. [23], fue la duración prolongada de la alteración microbiómica inducida por HRZE. En este estudio el grupo curado había completado el tratamiento en promedio 1.2 años antes, sin embargo, sus microbiomas aún eran detectablemente diferentes de los sujetos de control de la misma edad utilizando análisis de datos sin supervisión. Este hallazgo sugiere que la duración de 6 meses de la terapia HRZE tiene efectos duraderos sobre la estructura comunitaria del microbioma. Cabe agregar además y teniendo en cuenta los datos de Namasivayam *et al.* [24], que tanto en ratones como en humanos existe una disbiosis microbiómica persistente después de completar el tratamiento con HRZE. Aunque la diversidad alfa se recupera, el perfil taxonómico en ratones y humanos, y el perfil de la vía funcional en humanos, sugiere que la administración de 6 meses de tratamiento con HRZE causa cambios persistentes, cambios que, en términos de función taxonómica y metagenómica, se prolongan durante más de un año después de la finalización de la terapia para la enfermedad de TB [23]. Aunque la composición del microbioma intestinal puede estar determinada por muchos factores a lo largo de la vida, se comprende cada vez más que, en ausencia de perturbación antibiótica, permanece relativamente estable [53].

En su revisión sistemática Bo-Young Hong y col. [40], encontraron que aunque el cambio en el microbioma con la terapia con antibióticos puede ser un evento reversible, dependiendo del régimen de antibióticos, el tiempo de recuperación puede variar, y que incluso la exposición a un ciclo corto de antibióticos, puede conducir a nuevas poblaciones bacterianas que se estabilizan durante años en el intestino humano y estos procesos de las comunidades microbianas que regresan a su estado inicial, suelen ser incompletos [54-56].

Matthew F. Wiperman y col. [23], describen como estudios llevados a cabo en ratones caracterizaron los efectos inmediatos y a largo plazo, del tratamiento de la TB con HRZE sobre la diversidad microbiana, la composición taxonómica y la capacidad bioquímica, demostrando mediante secuenciación de ADN metagenómico y 16S, los efectos disruptivos sustanciales y únicos de la terapia HRZE en la composición del microbioma intestinal, concluyendo en consecuencia que la disbiosis microbiómica intestinal duradera es una consecuencia del tratamiento de la TB.

John Osei Sekyere, Nontuthuko E. Maningi y Petrus B. Fourie [50], al igual que Wiperman, M.F. *et al.* [23], observaron que los fármacos antituberculosos causaron disbiosis que se extendió más allá de 1 año a 3 años después de la administración del fármaco, y aunque el tratamiento de la TB no tuvo ningún efecto sobre la diversidad general del microbioma, especies específicas importantes inmunológicamente (p. Ej., *Bacteroides*, que modula la respuesta inflamatoria del huésped en ratones; *Ruminococcus* y *Coprococcus*, que regulan la expresión de citoquinas periféricas, como IL-1 e IFN- γ ; y *Bifidobacterium*, que induce células TH17 en ratones) se agotaron, y la perturbación duró más de 1 y 2 años. También observaron que la administración de HRZ (E), tuvo un efecto persistente sobre el microbioma intestinal varios meses después de la interrupción del tratamiento, efecto similar al observado por Namasivayam, S. *et al.*[24].

Wiperman *et al.* y Namasivayam *et al.* [23,24], demuestran en sus investigaciones que después de una exposición prolongada a múltiples antibióticos en el caso del tratamiento de la TB, la composición de la microbiota intestinal mostró un cambio dramático incluso después de un largo período de recuperación.

En relación a la homogeneidad o no de los efectos provocados por los fármacos entre sí, Charissa C Naidoo *et al.* [57], mostraron que una evaluación longitudinal del efecto

del tratamiento antituberculoso de primera línea en la microbiota intestinal en ratones, provocaba una reducción de la diversidad bacteriana y estructuras de la comunidad microbiana alteradas dentro de un día de tratamiento con politerapia con INH, RIF y PZA (disminución de *Clostridia*), que no empeoró después de 2 semanas, pero duró al menos 3 meses después del tratamiento, como ya lo había demostrado Namasivayam *et al.* en su estudio publicado en 2017 [24], estudio que describe que cuando se administró monoterapia (INH, RIF o PZA sola), RIF, pero no INH o PZA, disminuyó la diversidad, aunque la INH y la PZA causaron individualmente alteraciones en las cantidades de algunos taxones en comparación con la microbiota intestinal de ratones sin tratamiento previo con antibióticos (p. Ej. , enriquecimiento de *Gordonibacter* con INH y *Marvinbryantia* con PZA). Los ratones que recibieron una combinación de los tres fármacos presentaron cambios inducidos por el tratamiento diferentes a los que recibieron RIF sola, aunque supuestamente la RIF es el único fármaco de este régimen con actividad antimicrobiana fuera de las micobacterias, como la había descrito Maier L *et al.* en 2018 [58]. Como se observó en ratones, el tratamiento de primera línea para la TB resultó en cambios persistentes en la microbiota intestinal, que duraron hasta 14 meses después del tratamiento en individuos curados [57].

Finalmente Sivaranjani Namasivayam *et al.* [24], observaron en sus estudios que un hallazgo importante en el modelo murino era que la composición alterada de la microbiota después del tratamiento con antibióticos contra la TB, persiste durante al menos 3 meses después de la interrupción del tratamiento, un período relativamente largo en la vida útil de los ratones de laboratorio. La disbiosis observada que se involucra a muchos taxones persiste en seres humanos, durante al menos un año y medio y hasta 3 años después del cese de la terapia, hallazgo que respalda la naturaleza a largo plazo del estado disbiótico desencadenado por el tratamiento de la TB.

5.5 Disminución de la respuesta inmunitaria en el huésped a causa del tratamiento para la TB con antituberculostáticos de primera línea

Dos estudios llevados a cabo uno en humanos y otro en ratones [23, 24] produjeron resultados similares. En ambos estudios, las especies asociadas con regulación inmunitaria se redujeron después de la exposición a antimicrobianos en pacientes con TB o ratones. Específicamente, las especies del orden *Costridiales*, que se sabe que están asociadas con la función reguladora alterada de las células T (Treg), disminuyeron, mientras que las pertenecientes a *Erysipelotrichaceae*, asociadas con alteraciones metabólicas e inflamatorias, y *Proteobacteria*, que contiene varias especies patógenas, aumentaron significativamente. En estos estudios se demostró que la exposición a HRZE redujo géneros pertenecientes a *Clostridiales*, como *Ruminococcus spp.*, *Ruminococcus gnavus* y *Faecalibacterium spp.*, Mientras que los miembros de *Bacteroidetes*, como *Bacteroides spp.* (*B. fragilis*, *B. plebeius*, *B. caccae* y *B. coprophilus*) y *Parabacteroides distasonis*, se enriquecieron significativamente.

John Osei Sekyere, Nontuthuko E. Maningi, and Petrus B. Fourie [50], concluyeron que al agotar o alterar la microbiota finamente equilibrada, los antimicrobianos no solo afectan el estado funcional del microbioma, sino que también afectan el sistema inmunológico, lo que predispone al huésped a un aluvión de infecciones. En particular, los ratones cuya microbiota intestinal estaba agotada con antimicrobianos tuvieron una mayor proliferación de Mtb en sus pulmones, extendiéndose al bazo y al hígado. Además, había granulomas más grandes y más numerosos en los pulmones de ratones con disbiosis intestinal, junto con una expresión reducida de IFN- γ , TNF- α , MHCII, CD86, MINCLE (lectina de tipo C inducible por macrófagos), IL-17A, Citocinas IL-12 e IL-6. Además, se redujo la migración, abundancia y proliferación de células MAIT, DC, células CD4 + y células T efectoras y de memoria, mientras que

umentaron las células Treg, IL-10 y las células T agotadas; la capacidad fagocítica de las células CD4 + también se redujo sustancialmente.

Contrario a lo anterior, Khan *et al.* [59], observaron que la exposición previa de ratones a INH y PZA, que son profármacos, pero no RIF, resultó en una mayor carga de Mtb después de la infección en comparación con los ratones no expuestos anteriormente. En particular, INH/PZA afectó la inmunidad innata, pero no la inmunidad adaptativa, a través de cambios en el microbioma intestinal, mientras que RIF no tuvo tal efecto.

Shikha Negi *et al.* [37], demostraron que la alteración de la microbiota intestinal durante la terapia con INH anulaba la respuesta de células T específicas de Mtb en ratones, y provocaba el deterioro del aclaramiento de Mtb mediado por INH y el agravamiento de la patología tisular asociada a la TB. Observaron además que un efecto importante se produjo sobre la inmunidad innata al reducirse la respuesta de las células T CD4 contra Mtb, y que en particular, la terapia con INH en ratones infectados con Mtb (Mtb-INH) también redujo la población de células T CD4 activadas. Ello les permitió concluir que la alteración de la microbiota intestinal durante la terapia con INH elimina la respuesta inmune innata contra Mtb. Estos datos confirman que la alteración de la microbiota intestinal durante la terapia con INH deteriora aún más la respuesta inmune innata del huésped contra Mtb. Shikha Negi *et al.* [37], concluyen que es posible que la alteración de la microbiota haya provocado una disminución de la población de comensales beneficiosos que afectó la respuesta inmunitaria a la terapia con INH al restringir eficazmente la supervivencia de Mtb. Esta observación, en su estudio, está respaldada por el aumento de la carga de Mtb y el desarrollo de regiones granulomatosas más graves en los pulmones.

Sivaranjani Namasivayam *et al.* [33], concluyeron que los antimicrobianos causan perturbaciones a largo plazo en la microbiota intestinal, que Mtb causa alteraciones limitadas y transitorias de la microbiota pulmonar-intestinal, que la disbiosis agota las especies bacterianas que regulan el funcionamiento inmunológico adecuado, reduciendo la resistencia a Mtb y que la microbiota produce ácidos grasos de cadena corta, que se reducen por disbiosis, afectando las células inmunes y aumentando la proliferación de Mtb.

Cash, H. L. *et al.* [60], utilizando un modelo murino in vivo de TB, observaron una inmunidad intestinal disminuida en animales con microbiota alterada que se sometían a terapia con INH a medida que disminuía el nivel de RegIII y (péptido antimicrobiano). Cavalcanti, Y. *et al.* [61], encontraron además que las citoquinas proinflamatorias, como el TNF- α y el IFN- γ , que desempeñan un papel importante en la respuesta inmune del huésped, estaban disminuidas. Estos hallazgos sugieren que las alteraciones en la microbiota intestinal durante la terapia con INH pueden afectar la defensa e inmunidad innatas del intestino, y la importante contribución de las bacterias intestinales en la determinación de la respuesta inmune del huésped al tratamiento con INH.

Wipperman MF *et al.* [23], consideran en función de los hallazgos encontrados en su estudio, que la perturbación del microbioma inducida por HRZE puede tener efectos significativos sobre las respuestas inmunes periféricas y el tono inmunológico sistémico general.

Shikha Negi *et al.* [37], observaron un cambio distinto en el perfil microbiano intestinal con abundancia de *Enterococcus* y reducción de la población de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y concluyeron que la microbiota intestinal es un determinante crucial en la eficacia de INH para matar Mtb e impacta la respuesta inmune del huésped

contra la infección. Biraro, I. A. *et al.* [62], ya habían demostrado que los tratamientos con INH reducen el nivel de IFN- γ en pacientes con TB.

Los hallazgos observados en el estudio de Wipperman *et al.* [23], indicaron que aunque el estrecho espectro del régimen de tratamiento de la TB se refleja en la diversidad general conservada en los casos tratados con HRZE, lo más dramático fue el agotamiento de múltiples especies de *Ruminococcus*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* y *Bacteroides* junto con un aumento simultáneo de *Erysipeloclostridium* y *Prevotella*. *Ruminococcus* y *Coprococcus* son dos de los *phyla* más drásticamente agotados en pacientes tratados con HRZE, estos organismos modulan la producción de citoquinas periféricas, incluidas IL-1 e IFN γ 26. De manera similar, *Bifidobacterium*, que se encontró agotado en los casos tratados con HRZE, puede inducir una respuesta inmune Th17 en ratones [44].

5.6 Riesgo de recaída y recurrencia durante y después del tratamiento por el daño provocado en la microbiota intestinal del paciente tratado para TB con INH, EMB, RIF y PZA

Solo un estudio expuso las conclusiones en relación al riesgo de recurrencia para pacientes tratados con antituberculostáticos de primera línea. Sivaranjani Namasivayam *et al.* [48], evaluaron por qué los pacientes con antecedentes de TB tienen un riesgo elevado de recurrencia, comparando la producción de IFN- γ en respuesta a diferentes epítomos de células T relacionados con *M. tuberculosis* mediante el uso de células T de pacientes con o sin TB previa, como lo habían ya llevado a cabo Brennan PJ y Young DB [63], quienes observaron que un subconjunto de epítomos (tipo 2) fueron reconocidos con menos eficacia por los linfocitos T de algunos pacientes tratados previamente que los de individuos sin TB previa. Estos epítomos de tipo 2 eran más homólogos a las bacterias (incluidas las micobacterias no tuberculosas) en el intestino humano que otros epítomos. Por lo tanto, el tratamiento de la TB podría agotar diferencialmente el microbioma humano de taxones bacterianos necesarios para el mantenimiento de la respuesta de tipo 2, y la ausencia de esta respuesta podría elevar el riesgo de recurrencia.

5.7 Susceptibilidad a reinfección una vez acabado el tratamiento con fármacos de primera línea, como consecuencia del daño provocado en la microbiota intestinal

Osagie A. Eribo, *et al.* [45], concluyen que un resultado preocupante de la perturbación del microbioma intestinal inducida por fármacos anti-TB, es la posibilidad de aumentar la susceptibilidad a una reinfección posterior o al recrudecimiento de la enfermedad de TB después de curarse. Este mismo estudio sugiere que en conjunto, los antibióticos anti-TB de espectro estrecho tienen un efecto profundo en el microbioma intestinal que a su vez impacta negativamente en la defensa inmune de los macrófagos contra Mtb. Al interpretar los datos, infirieron que con el tratamiento y la cura exitosa de la TB, la comunidad del microbioma intestinal se veía perturbada [64]; esta disbiosis de la microbiota intestinal en consecuencia tiene un impacto negativo en el metabolismo de los macrófagos [59] y como consecuencia, la actividad micobactericida de los macrófagos se ve afectada por el posterior desafío infeccioso de Mtb., lo que conduce a una reinfección exitosa [65].

John Osei Sekyere *et al.* [50], concluyen que hasta ahora se han obtenido importantes éxitos, y que la mayoría de los estudios coinciden en el impacto sustancial y a largo plazo de los antimicrobianos contra la TB en la ecología y la inmunidad microbianas intestinales, lo que podría predisponer a un paciente curado a la reinfección por TB. Sus hallazgos confirman la fuerte asociación entre la microbiota intestinal y la

patogénesis de Mtb mediada por el sistema inmunológico, incluida la importancia de ciertas especies bacterianas y FT en la lucha contra la Mtb. El estudio de John Osei Sekyere *et al.* [50], también informó de una fuerte correlación entre la abundancia de ciertas especies en el intestino y los recuentos de células T CD4 + periféricas. En este estudio las células CD4 + se correlacionaron positiva y fuertemente con *Prevotella* en los casos nuevos de TB, pero se correlacionaron negativamente con las células CD4 + en los casos de TB recurrente [50]. De igual manera se informó sobre cambios en el microbioma intestinal y las vías metabólicas, que podrían durar, en promedio, 1,2 años, con bacterias afectadas como *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* y *Coprococcus*, que se sabe que son beneficiosas para el sistema inmunológico periférico, incluida la IL-1, Modulación de IFN- γ y TH [66]. Estos cambios facilitan que los pacientes con TB curados se reinfecten con la enfermedad o con otras infecciones, especialmente porque la disbiosis puede persistir más de un año [23]. Por lo tanto, se debe investigar el impacto de la disbiosis mediada por fármacos antituberculosos en otras enfermedades.

Wipperman MF *et al.* [23], consideran que es posible que los individuos curados sean más susceptibles a la infección sistémica debido a los efectos de la alteración microbiótica y la alteración de la inmunidad periférica. Múltiples estudios epidemiológicos han indicado que las personas curadas de TB corren un mayor riesgo de un segundo caso de TB debido a una reinfección [27, 67].

Shikha Negi *et al.* [37], observaron a este respecto, un cambiodistinto en el perfil microbiano intestinal con abundancia de *Enterococcus* y reducción de la población de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y concluyeron que la microbiota intestinal es un determinante crucial en la eficacia de INH para matar Mtb e impacta la respuesta inmune del huésped contra la infección. Se ha demostrado que los tratamientos con INH reducen el nivel de IFN- γ en pacientes con TB [62]. Además, la apoptosis de células T inducida por INH es responsable de la reinfección y reactivación de Mtb [68].

5.8 La microbiota intestinal y el impacto potencial en la farmacocinética de los medicamentos antituberculosos

Osagie A. Eribo, *et al.* [45], concluyen a este respecto que la microbiota intestinal juega un papel en la farmacocinética (PK) de los fármacos. Aunque la síntesis de ácidos biliares primarios y el metabolismo de los fármacos se produce fundamentalmente en el hígado, los ácidos biliares secundarios son producidos principalmente por la microbiota intestinal [28]. Existen pruebas que apoyan el papel del microbioma intestinal en la modificación de los niveles de expresión de transportadores y enzimas que metabolizan los fármacos [60]. Osagie A. Eribo, *et al.* [69], también argumentan que la microbiota intestinal podría afectar la biodisponibilidad, eficacia y toxicidad de los medicamentos a través de diferentes mecanismos, tales como: producir enzimas que activan o inactivan los medicamentos; por ejemplo, la conversión de sulfalazina en su derivado activo, ácido 5-amino-5-salicílico por enzimas producidas por la microbiota intestinal; que se unen directamente a los fármacos, lo que impacta en su biodisponibilidad; por ejemplo, la biodisponibilidad de la L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) se ve alterada por la unión de *H. pylori* [70, 71].

5.9 Recomendaciones para la reposición de la microbiota intestinal antes, durante y después del tratamiento con antituberculostáticos de primera línea

Osagie A. Eribo, *et al.* [45], plantean que la disbiosis inducida por antibióticos inhibió la señalización de TLR7, cuyo evento redujo la secreción de las citoquinas proinflamatorias IFN- γ e IL-17 posteriores, con un aumento simultáneo de los niveles

de IL-4 e IL-10. Sin embargo, después de la reconstitución probiótica de *Bifidobacterium* de la microbiota intestinal, la respuesta de TLR7 mejoró y restauró la producción de IFN- γ e IL-17 pero inhibió notablemente la inducción de IL 4 e IL-10 [55]. También se redujo el daño pulmonar [72]. Estos datos sugieren claramente la participación de la activación de TLR en la diafonía inmune a lo largo del eje intestino-pulmón. Comprender y mantener esta comunicación a lo largo del eje intestino-pulmonar es especialmente importante considerando la literatura emergente que vincula la disbiosis del microbioma intestinal y la enfermedad de TB. Estos informes demuestran que la microbiota comensal podría manipularse para obtener ventajas clínicas. Esta metodología podría explorarse durante el tratamiento de la TB utilizando probióticos dirigidos no a curar, sino a amortiguar el efecto de los antibióticos anti-TB en la comunidad de la microbiota intestinal. La recomendación que hacen al respecto en su estudio indica que los trasplantes fecales restauran en su mayoría la eubiosis, aumentan la resistencia inmunitaria a *Mtb*, restringen la diseminación de *Mtb* y reducen las patologías de órganos asociadas a la TB. El uso excesivo de antimicrobianos, como se muestra en ratones, es un factor de riesgo para reactivar la TB latente o tratada. De allí que el trasplante de microbioma fecal o la suplementación con probióticos pueden ser una posible solución.

Shikha Negi *et al.* [37], concluyen que el desarrollo de probióticos utilizando microbios intestinales beneficiosos y su terapia combinatoria con fármacos puede mejorar la eficacia de los fármacos antituberculosos para tratar la enfermedad y mejorar la inmunidad del huésped contra *Mtb*.

6. Discusión

Esta revisión sistemática examinó los efectos provocados por el tratamiento para la TB con fármacos de primera línea (INH/EMB/PZA/RIF) en la microbiota intestinal de humanos y murinos. Todos los estudios mostraron que INH, EMB y PZA tienen una actividad de espectro estrecho contra las micobacterias, mientras que RIF tiene un efecto de amplio espectro, y que el tratamiento con anti-TB de espectro reducido, también altera el metabolismo y la función de los macrófagos alveolares. Todos los estudios han sido consistentes en demostrar que aunque los anti-TB de primera línea son eficaces para matar *Mycobacterium tuberculosis*, provocan una profunda disbiosis del microbioma intestinal inducida por la terapia con los mismos. Esta disbiosis es rápida y provoca pérdidas de diversidad y cambios en la abundancia de microbios intestinales hacia arriba o hacia abajo. Los estudios han confirmado que el tratamiento de la TB con HRZE en humanos y en ratones, afecta el microbioma intestinal en formas distintas y duraderas, agotando géneros específicos de bacterias durante el tratamiento [22, 23, 24, 33, 37, 38, 40, 41, 43, 45, 49, 50, 62]. Se demostró además que los efectos de la RIF en el microbioma intestinal son más drásticos que los ocasionados por INH, PZA y EMB, y que provoca mayores cambios disbióticos intestinales, no sólo en cantidad, también en diversidad [22, 23, 24, 33, 37, 38, 41, 62].

Las infecciones por Mtb tanto activas como latentes solo inducen cambios menores en la microbiota intestinal, en contraste con la terapia anti-TB que conduce a rápidas alteraciones en la composición, diversidad y estructura comunitaria de la microbiota, inclusive una semana después de haber empezado el tratamiento [33]. Esta disbiosis, después de la finalización de la extensa terapia antituberculosa (normalmente 6 meses), que además involucra a muchos taxones, persiste en seres humanos durante al menos un año y medio y hasta tres años después del cese de la terapia, y revela una considerable heterogeneidad interindividual en los cambios observados en la microbiota [22, 23, 24, 33]. De hecho y después de un mes de tratamiento con HRZE se detecta una reducción significativa de la riqueza de la microbiota intestinal en pacientes con TBP [24, 41].

La disbiosis de la microbiota intestinal en pacientes con TB pulmonar se caracteriza por una regulación positiva de la bacteria proinflamatoria *Prevotella* y el patógeno oportunista *Enterococcus*, así como una reducción de las bacterias beneficiosas *Ruminococcaceae*, *Bifidobacteriaceae* y *prausnitzii*. Es evidente que la diversidad de la microbiota intestinal en los pacientes con TBP en comparación con pacientes sanos, generalmente está disminuida y experimenta una sobrerrepresentación significativa de *Prevotella*, *Enterococcaceae* y *Enterococcus*, al mismo tiempo que *F. ruminococcaceae* y *F. prausnitzii*, pertenecientes al género *Faecalibacterium*, disminuyen significativamente [24, 41, 42]. El tratamiento con HRZ está directamente asociado a una disminución significativa de la abundancia relativa de géneros bacterianos pertenecientes a la clase *Clostridia* del filo *Firmicutes*, que se mantiene inclusive hasta tres meses después de la interrupción del tratamiento, de igual manera esta terapia está correlacionada con un aumento en géneros específicos de los *phyla Bacteroidetes* y *Proteobacteria*, no obstante y como demostraron Namasivayan y col. [24], la disbiosis en el microbioma intestinal del ratón era principalmente una consecuencia de la administración del antibiótico de amplio espectro, RIF, pero no de los fármacos de espectro estrecho INH o PZA solas.

La terapia con medicamentos anti-TB provoca cambios en el perfil microbiano intestinal incrementando los *Bacteroidesspp.* (*B. fragilis*, *B. plebeius*, *B. caccae* y *B. coprophilus*), *Parabacteroides distasonis* y *Enterococcus* (*Erysipeloclostridium* y *Prevotella*) y reduciendo significativamente los niveles de proteobacterias, entre las que pueden citarse la población de los géneros *Acetivibrio*, *Robinsoniella*, *Alkaliphilus*,

Stomatobaculum, *Butyricoccus*, *Acetanaerobacterium*, *Tyzzarella*, *Ruminococcus obeum*, *Ruminococcus gnavus*, *Faecalibacterium spp.*, y *Peptococcus*, todos pertenecientes a la clase *Clostridia* del filo *Firmicutes*, así como *Campylobacter*, *Eubacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium longum* (conocidos estos dos últimos por sus propiedades inmunomoduladoras beneficiosas), aunque estas reducciones podrían estar también reflejando el efecto de la terapia anti-TB en la reducción del gen inflamatorio del huésped, que podría afectar indirectamente los niveles de las proteobacterias descritas [33, 47],

Así mismo el tratamiento con HRZE reduce drásticamente los géneros en su mayoría pertenecientes a la clase *Clostridia*. Los *Ruminococcus* y *Coprococcus*, organismos que modulan la producción de citoquinas periféricas, incluidas IL-1 e IFN γ 26, responsables de la reinfección y reactivación de Mtb [24, 37, 39, 40, 46]. Los pacientes sometidos a tratamiento con HRZE manifiestan reacciones adversas gastrointestinales y disfunción hepática, lo que acaba provocando un daño directo en la mucosa intestinal, conduciendo finalmente a reducir la absorción del fármaco y del metabolismo hepático [38, 39].

Los efectos inmediatos y a largo plazo del tratamiento con HRZE sobre la diversidad microbiana, la composición taxonómica y la capacidad bioquímica, fueron demostrados por algunos estudios en ratones y humanos [23, 24, 33, 37], mediante secuenciación de ADN metagenómico y ADNr 16S durante y después del tratamiento, permitiendo concluir que la disbiosis microbiómica intestinal duradera es una consecuencia del tratamiento de la TB, que aunque no perturba la diversidad general, si disminuye de forma drástica múltiples bacterias comensales inmunológicamente significativas. Wiperman *et al.* [23, 24, 33, 48], demostraron los dramáticos efectos a corto y largo plazo del tratamiento estándar con antibióticos HRZE sobre el microbioma intestinal, reflejando una pérdida rápida pero transitoria de la diversidad bacteriana, así como alteraciones persistentes en la composición del microbioma, que no se recuperan después del cese de la terapia [24], con una reducción significativa de los géneros *Bacteroidetes* *Bacteroides* y un prominente incremento de *Faecalibacterium*, *Eubacterium* y *Ruminococcus*, lo que demuestra las conclusiones a las que como en el estudio de Becattini S, *et al.* [39], habían llegado. Los anti-TB perturban en consecuencia la composición del microbioma intestinal y su uso está asociado con consecuencias potencialmente perjudiciales.

Los efectos más importantes en la microbiota intestinal producidos por el tratamiento anti-TB con fármacos de primera línea, se atribuyen sobre todo a la RIF como el principal impulsor de las alteraciones; no obstante se han detectado efectos de INH y PZA en determinadas combinaciones de fármacos, como disminución en los macrófagos alveolares de la reserva de la capacidad respiratoria, la respiración basal y la producción de ATP, así como mayor tolerancia de estos al crecimiento de M.tb [45]. Todo lo anterior contribuye a revelar que los antituberculostáticos empleados en el tratamiento convencional de la TB inducen una disbiosis distinta y duradera [24]. Los efectos sobre la microbiota varían dependiendo de la administración dual de los antibióticos, de allí que las disminuciones significativas en la diversidad se observen cuando RIF es uno de los socios dentro del cóctel, por ejemplo y como lo demostró Namasivayam *et al.* [24], ni RIF ni PZA por sí solos provocaron un aumento significativo de enterobacterias, mientras que un tratamiento dual RIF/PZA provocaron un aumento significativo de la enterobacteria *Brenneria*, después del mismo. Los experimentos llevados a cabo en este sentido indican que cada uno de los componentes antibióticos del cóctel HRZ contribuye a la disbiosis general que se produce después del tratamiento farmacológico de ratones no infectados, teniendo RIF y PZA los efectos más destacados, puesto que inducen alteraciones que superan a las desencadenadas por INH/RIF/PZA. Como ya se ha mencionado anteriormente, los

cambios en la microbiota intestinal son en gran medida independientes de la propia infección por micobacterias, y dependen de los efectos combinados de los diferentes componentes en el cóctel triple de antibióticos. No se ha constatado en cambio homogeneidad en los efectos provocados por los fármacos de primera línea en las evaluaciones longitudinales que se han llevado a cabo al respecto [24, 57], en los experimentos que se han llevado a cabo cuando se ha administrado monoterapia con INH, RIF o PZA solas, es RIF quien disminuye con mayor poder la diversidad y provoca efectos adversos más importantes en la microbiota intestinal, aunque INH y PZA provoquen alteraciones en las cantidades de algunos taxones como enriquecimiento de *Gordonibacter* con INH y *Marvinbryatia* con PZA [24, 58], y afecten la inmunidad innata contra Mtb pero no la inmunidad adaptativa, como concluyeron Khan *et al.* [59] y Shikha Negi *et al.* [37].

La evaluación del microbioma mediante la secuenciación del ADNr 16S y del ADN metagenómico, durante el tratamiento anti-TB con HRZE y posterior al cumplimiento del tratamiento (más de seis meses), ha permitido constatar el drástico agotamiento de múltiples bacterias comensales inmunológicamente significativas, que intervienen en la modulación de la respuesta inflamatoria del huésped tales como *Ruminococcus* y *Coprococcus*, que regulan además la expresión de citoquinas periféricas como IL-1 e IFN- γ ; y *Bifidobacterium*, que induce células TH17 en ratones [23, 24, 50], efecto que además persiste durante un largo período de tiempo (1,2 años); y aunque el ecosistema previo al tratamiento del microbioma generalmente se recupera una vez finalizada la terapia con antituberculostáticos, hay efectos notables que persisten durante semanas, meses e incluso años y pueden tener consecuencias sistémicas y potencialmente perjudiciales para la inmunidad y la susceptibilidad a la enfermedad [51, 52]. De hecho Bo-Young Hong *et al.* [40], encontraron que aunque el cambio en el microbioma con la terapia con antibióticos puede ser un evento reversible, dependiendo del régimen de antibióticos, el tiempo de recuperación puede variar, e incluso la exposición a un ciclo corto de antibióticos, puede conducir a nuevas poblaciones bacterianas que se estabilizan durante años en el intestino humano y estos procesos de las comunidades microbianas que regresan a su estado inicial, suelen ser incompletos [54-56]. En este sentido la evidencia parece ser cada vez más convincente indicando claramente que el tratamiento con HRZE induce una perturbación microbiómica detectable, que podría ser de larga duración, ante la prolongada exposición a antituberculostáticos, como concluyeron Matthew F. Wiperman y col. [23].

La disminución de la respuesta inmunitaria en el huésped provocada por la exposición al tratamiento anti-TB de primera línea, es un hecho cada vez mayormente constatado por estudios que reflejan resultados similares [23, 24]. Las especies asociadas a la regulación inmunitaria presentan una reducción importante en la microbiota, después de la exposición al tratamiento antituberculostático con HRZE. Específicamente las especies más afectadas por la reducción experimentada son las del orden *Costridiales*, asociadas con la función reguladora alterada de las células T (Treg), mientras que las pertenecientes a *Erysipelotrichaceae*, asociadas con alteraciones metabólicas e inflamatorias, y *Proteobacteria*, que contiene varias especies patógenas, aumentaron significativamente [23, 24]. Así mismo y como concluyeron John Osei Sekyere, Nontuthuko E. Maningi and Petrus B. Fourie [50], al agotar o alterar la microbiota, los antimicrobianos no solo afectan el estado funcional del microbioma, sino que también afectan el sistema inmunológico, lo que predispone al huésped a un aluvión de infecciones. De hecho se ha observado que en murinos cuya microbiota intestinal ha sido agotada por HRZE, hay mayor proliferación de Mtb en sus pulmones (que se extiende hasta el bazo y el hígado), y granulomas más grandes y más numerosos en sus pulmones, junto con una expresión reducida de IFN- γ , TNF- α , MHCII, CD86, MINCLE (lectina de tipo C inducible por macrófagos), IL-17A, Citoquinas

IL-12 e IL-6, al tiempo que se reduce la migración, abundancia y proliferación de células MAIT, DC, células CD4 + y células T efectoras y de memoria, mientras que aumentan las células Treg y las IL-10; al tiempo que la capacidad fagocítica de las células CD4 + se reduce sustancialmente [23, 24, 50, 62]. En este mismo sentido, se ha demostrado que la alteración de la microbiota intestinal durante la terapia por ejemplo, con INH, anula la respuesta de células T CD4 activadas específicas contra Mtb y provoca el deterioro del aclaramiento de Mtb mediado por INH, y el agravamiento en consecuencia de la patología tisular asociada a la TB [37]. Sivaranjani Namasivayam *et al.* [33], Cash, H. L. *et al.* [60], empleando modelos murinos demostraron que la disbiosis agota las especies bacterianas que regulan el funcionamiento inmunológico adecuado, reduciendo la resistencia a Mtb y que la microbiota produce ácidos grasos de cadena corta, que se reducen por disbiosis, afectando las células inmunes y aumentando la proliferación de Mtb. Por otra parte Wiperman MF *et al.* [23], consideran que la perturbación del microbioma inducida por HRZE puede tener efectos significativos sobre las respuestas inmunes periféricas y el tono inmunológico sistémico general.

Aunque solo un estudio expuso conclusiones en relación al riesgo de recurrencia para pacientes tratados con antituberculostáticos de primera línea, evaluando por qué los pacientes con antecedentes de TB tienen un riesgo elevado de recurrencia, comparando la producción de IFN- γ en respuesta a diferentes epítomos de células T relacionados con *M. tuberculosis* mediante el uso de células T de pacientes con o sin TB previa [48], como lo habían ya llevado a cabo Brennan PJ y Young DB [63], se puede argumentar que el tratamiento de la TB podría agotar diferencialmente el microbioma humano de taxones bacterianos necesarios para el mantenimiento de la respuesta de tipo 2, y la ausencia de esta respuesta podría elevar el riesgo de recurrencia.

En relación a la reinfección una vez acabado el tratamiento con fármacos de primera línea, como consecuencia del daño provocado en la microbiota intestinal, se puede afirmar que la perturbación del microbioma intestinal inducida por fármacos anti-TB, incrementa la susceptibilidad a una reinfección posterior o al recrudecimiento de la enfermedad de TB después de curarse [45]. En consecuencia se puede además inferir que con el tratamiento y la cura exitosa de la TB, la comunidad del microbioma intestinal padece importantes perturbaciones [64]; esta disbiosis de la microbiota intestinal en tanto tiene un impacto negativo en el metabolismo de los macrófagos [59] y como efecto, la actividad micobactericida de los macrófagos se ve afectada por el posterior desafío infeccioso de Mtb, lo que puede conducir a una reinfección exitosa [65]. Este fenómeno se observa convalidado en su revisión por John Osei Sekyere *et al.* [50], quienes concluyen que hasta ahora se han obtenido importantes éxitos, y que la mayoría de los estudios coinciden en el impacto sustancial y a largo plazo de los antimicrobianos contra la TB en la ecología y la inmunidad microbianas intestinales, lo que podría predisponer a un paciente curado a la reinfección por TB, dada la fuerte asociación entre la microbiota intestinal y la patogénesis de Mtb mediada por el sistema inmunológico, incluida la importancia de ciertas especies bacterianas y FT en la lucha contra la Mtb. Los cambios en microbioma intestinal y las vías metabólicas que podrían durar, en promedio, 1,2 años, con bacterias afectadas como *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* y *Coprococcus*, que se sabe que son beneficiosas para el sistema inmunológico periférico, incluida la IL-1, Modulación de IFN- γ y TH [66], podrían facilitar que los pacientes con TB curados se reinfecten con la enfermedad o con otras infecciones, especialmente porque la disbiosis puede persistir más de un año [23]. A este respecto Wiperman MF *et al.* [23], consideran que es posible que los individuos curados sean más susceptibles a la infección sistémica debido a los efectos de la alteración microbiótica y la alteración de la inmunidad periférica. Múltiples estudios epidemiológicos han indicado que las personas curadas

de TB corren un mayor riesgo de un segundo caso de TB debido a una reinfección [27, 67].

La microbiota intestinal juega un papel en la farmacocinética (PK) de los fármacos anti-TB de primera línea [45], ya que y aunque la síntesis de ácidos biliares primarios y el metabolismo de los fármacos se produce fundamentalmente en el hígado, los ácidos biliares secundarios son producidos principalmente por la microbiota intestinal [28]. Además existen pruebas fecientes que apoyan el papel del microbioma intestinal en la modificación de los niveles de expresión de transportadores y enzimas que metabolizan los fármacos [60]. La microbiota intestinal podría además afectar la biodisponibilidad, eficacia y toxicidad de los medicamentos a través de diferentes mecanismos, tales como: producir enzimas que activan o inactivan los medicamentos; la conversión de sulfalazina en su derivado activo, ácido 5-amino-5-salicílico por enzimas producidas por la microbiota intestinal; que se unen directamente a los fármacos, lo que impactaría su biodisponibilidad [70, 71].

La reconstitución probiótica parece ser una de las mejores recomendaciones para la reposición de la microbiota intestinal antes, durante y después del tratamiento con HRZE. Cuando se reconstituyó con probióticos (por ejemplo con *Bifidobacterium*, la respuesta de TLR7 mejoró y restauró la producción de IFN- γ e IL-17 pero inhibió notablemente la inducción de IL 4 e IL-10 [55], al mismo tiempo que se redujo el daño pulmonar [72]. Estos hallazgos sugieren claramente la participación de la activación de TLR en la diafonía inmune a lo largo del eje intestino-pulmón. La comprensión y mantenimiento de esta comunicación a lo largo del eje intestino-pulmonar es especialmente importante considerando la literatura emergente que vincula la disbiosis del microbioma intestinal y la enfermedad de TB. Los informes a este respecto demuestran que la microbiota comensal podría manipularse para obtener ventajas clínicas. Esta metodología podría explorarse durante el tratamiento de la TB utilizando probióticos dirigidos no a curar, sino a amortiguar el efecto de los antibióticos anti-TB en la comunidad de la microbiota intestinal [55]. Los efectos que según Jakobsson HE, *et al.* [55], hacen a este respecto sugieren que los trasplantes fecales restauran en su mayoría la eubiosis, aumentan la resistencia inmunitaria a Mtb, restringen la diseminación de Mtb y reducen las patologías de órganos asociadas a la TB. De allí que el trasplante de microbioma fecal o la suplementación con probióticos pueden ser una posible solución. En este sentido Shikha Negi *et al* [37], concluyen y recomiendan que el desarrollo de probióticos utilizando microbios intestinales beneficiosos y su terapia combinatoria con fármacos, puede mejorar la eficacia de los fármacos antituberculosos para tratar la enfermedad y mejorar la inmunidad del huésped contra Mtb.

Esta revisión bibliográfica estuvo limitada por la poca disponibilidad de estudios longitudinales y prospectivos de causa efecto, que analizaran variables causales en el tiempo, la mayoría de los mismos son estudios de corte transversal, que inhiben la capacidad de detectar relaciones causales entre la microbiota intestinal, el impacto de los fármacos de primera línea y el desarrollo de la TB. Otra de las limitaciones está relacionada con el tamaño simple y relativamente pequeño de las poblaciones estudiadas, lo que impide caracterizar la microbiota intestinal en pacientes con TBP en diferentes grupos de edad, incluidos los grupos de lactantes, niños y adolescentes. Todo ello puede provocar que no se refleje de manera integral, los cambios en la microbiota intestinal de las poblaciones estudiadas. Finalmente se puede afirmar que se requieren además de estudios multicéntricos a gran escala, para validar la caracterización inicial de la microbiota intestinal de los pacientes con TB tratados con terapia farmacológica de primera línea (HRZE).

7. Aplicabilidad y nuevas líneas de investigación

Los estudios preliminares indican que el microbioma podría tener un papel importante en la patogénesis de Mtb y que el tratamiento de la TB tiene un efecto sobre la diversidad del microbioma humano a largo plazo. Sin embargo, se requieren nuevas investigaciones que trasciendan el marco de las asociaciones al vincular la microbiota mecánicamente al huésped, es decir investigaciones de causa efecto para la identificación y validación de firmas de microbiomas que puedan predecir la progresión y los resultados de la TB en entornos con alta carga de enfermedad, con el fin de garantizar que la investigación sobre la TB y la microbiota intestinal, sea representativa de las poblaciones de mayor importancia epidemiológica, puesto que la creciente evidencia sugiere que el microbioma interactúa con cada fase del espectro de la TB. El estudio del microbioma debería en consecuencia incluirse en la investigación clínica de la TB siempre que sea posible, incluso en los ensayos que prueban nuevas vacunas o regímenes de tratamiento.

Como terapia con al menos 6 meses de administración con HRZE, es de gran importancia investigar sistemáticamente el efecto a largo plazo del tratamiento anti-TB en la microbiota intestinal de los pacientes, y la posible influencia de las alteraciones de la microbiota intestinal en los resultados del tratamiento y los medicamentos inducidos así como los efectos adversos. Por lo tanto, se deberían llevar a cabo estudios prospectivos bien controlados, para proporcionar una mejor comprensión de estas preguntas. Se necesitan con urgencia estudios de cohortes prospectivos a gran escala y bien diseñados con un seguimiento más prolongado que ayuden a comprender mejor el uso a largo plazo de los HRZE en la microbiota intestinal de los pacientes y el impacto de la alteración de la microbiota intestinal en la eficacia terapéutica. El curso de tratamiento antituberculoso estandarizado de 6 a 8 meses con antituberculostáticos de primera línea, unificados y una duración de uso prolongada, brinda una oportunidad única para observar los efectos de la administración continua de antibióticos en la microbiota intestinal.

Se requieren más investigaciones que aborden las brechas clave de conocimiento y los desafíos únicos para estudiar el microbioma en asociación con la TB, incluida la gran carga de antibióticos, para hacer avanzar el campo. Los estudios futuros podrían también investigar la participación de otros marcadores inmunes funcionales y fenotípicos. Dichos estudios podrían incluir análisis de composición y funcionalidad de metabolitos de la microbiota intestinal, por ejemplo, ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en la circulación periférica durante el tratamiento con antibióticos anti-TB. Los estudios destinados a desentrañar qué especies o metabolitos de la microbiota intestinal son necesarios para mantener una cascada de señalización TLR (receptores tipo toll), del microbioma intestinal normal y la validación de la localización de células T iniciadas en el intestino durante el desafío infeccioso de Mtb, podrían ser un área novedosa y de gran importancia para la investigación. También, los estudios que involucren modelos de infección por Mtb de microbioma intestinal alterado, destinados a reconstituir el intestino con especies específicas de microbioma intestinal o un cóctel de microbiota intestinal, pueden resultar innovadores para la identificación de especies bacterianas intestinales, cuyas funciones inmunomoduladoras podrían afectar positivamente la inmunidad, limitar la TB o disminuir la gravedad de la enfermedad.

El efecto de los antimicrobianos orales sobre la microbiota pulmonar no está del todo claro y los estudios actuales que informan sobre el efecto de microbiota de los antibióticos antituberculosos se centran en el intestino en lugar del microbioma pulmonar. Por lo tanto, los cambios concomitantes en el microbioma pulmonar, junto con el microbioma intestinal durante la terapia antimicrobiana, siguen siendo vagos. Se trata, por tanto, de un tema importante que requiere atención inmediata.

Los estudios sobre la TB y el microbioma en humanos deberían incluir controles de enfermos si se estudia la enfermedad activa, pacientes que no reciben ningún tipo de tratamiento antituberculoso o antibióticos, y emplear pruebas de diagnóstico con alta precisión para clasificar con seguridad a los pacientes (por ejemplo: Cultivo líquido, no microscopía de frotis o la prueba Xpert MTB / RIF, para TB activa). Además, la población de pacientes debe, siempre que sea posible, reflejar escenarios clínicos de la vida real para maximizar el potencial de traslación de los hallazgos observados.

Los efectos microbianos fuera del objetivo de los antibióticos son un área importante poco estudiada. Las investigaciones futuras deberían centrarse en una mejor caracterización de los efectos antimicrobianos en diferentes componentes de las comunidades microbianas, y las implicaciones de la eliminación de los organismos objetivo en las interacciones microbio-microbio y microbio-huésped. Los estudios bien controlados sobre el efecto a largo plazo del tratamiento de la TB podrían ayudar a comprender cómo la microbiota pulmonar e intestinal afecta la progresión de la enfermedad y los resultados del tratamiento.

Es imperativo desarrollar investigaciones que estudien los efectos a largo plazo del tratamiento en el microbioma de los niños (que a menudo reciben tratamiento para la TB de forma empírica), especialmente porque es más probable que las alteraciones del microbioma en las primeras etapas de la vida tengan como resultado efectos perjudiciales para la salud a largo plazo.

No existen datos sobre la microbiota de los pacientes con TB farmacorresistente, que tienen una gran carga de tratamiento con fármacos de 2, 3 y 4 línea, y que probablemente converjan en una profunda disbiosis a largo plazo después del extenso tratamiento, que en muchos pacientes suele durar hasta 2 años. La microbiota es un reservorio de resistencia a los antimicrobianos; sin embargo, es incierto si surge o no resistencia durante el tratamiento de la TB en comensales intestinales (particularmente *Escherichia coli* y *gramnegativos*), y cómo el llamado resistoma afecta la salud a largo plazo. Este es un interesante campo de investigación, más aún teniendo en cuenta el incremento importante de la incidencia de TB farmacorresistente en muchas áreas del mundo, directamente vinculadas a precariedad social y económica.

Hay pocos datos disponibles de aquellas poblaciones de pacientes que son epidemiológicamente importantes, tienen un riesgo elevado de resultados desfavorables y tienen una capacidad comprometida para controlar las comunidades microbianas residentes. Este grupo incluye a las personas VIH positivas (que representan aproximadamente el 10% de los pacientes con TB en todo el mundo y, incluso con una terapia antirretroviral estable, tienen una mayor abundancia de microbios característicos asociados con la inflamación pulmonar crónica), así como a las personas con trastorno por abuso de sustancias. La asociación entre estos factores y el microbioma es compleja y debería ser estudiada: sustancias como el alcohol no solo afectan directamente al microbioma, sino que también dan como resultado concentraciones más bajas del fármaco antituberculoso (además de afectar el cumplimiento del tratamiento), lo que a su vez también afecta al microbioma.

Los estudios deberían considerar los tipos de individuos que podrían ser adecuados para incluir como controles. Los estudios de casos y controles con controles sanos tienen inconvenientes bien conocidos, y es poco probable que sean útiles para la detección de perturbaciones de la comunidad microbiana específicas de la TB. Los pacientes que se presentan para la investigación de la TB a menudo tienen comorbilidades, que pueden confundir las comparaciones; este problema puede superarse de alguna manera mediante la inclusión de controles con comorbilidades comunes de TB. El uso reciente de antituberculostáticos y la TB previa, que

probablemente afecten al microbioma, pueden ser comunes pero difíciles de confirmar. La comparación de los microbiomas de individuos con diferentes estados de TB (por ejemplo, infección tuberculosa latente frente a TB subclínica frente a TB activa), también puede ser un desafío dadas las herramientas de diagnóstico subóptimas para la clasificación.

¿Podría la suplementación con probióticos destinada a reconstituir el microbioma intestinal durante el tratamiento con antibióticos anti-TB, mejorar la farmacocinética del fármaco antituberculoso y, en consecuencia, el resultado del tratamiento?. Los estudios futuros en este ámbito podrían desarrollar modelos animales para explorar si el tratamiento con antibióticos anti-TB combinado con probióticos (compuestos de especies microbianas específicas o cócteles de microbiota), mejoraría la respuesta y el resultado del tratamiento. Finalmente se podrían llevar a cabo estudios que investiguen la disbiosis del microbioma intestinal inducida por fármacos anti-TB, y el impacto potencial en la susceptibilidad a la reinfección, junto con las células inmunitarias asociadas y las vías afectadas, así como estudios que contribuyan en determinar si la disbiosis inducida por los propios fármacos antituberculosos tras el uso prolongado, tiene un impacto sobre la farmacocinética del fármaco.

8. Conclusiones

Aunque los anti-TB de primera línea (HRZE) son eficaces para eliminar *Mycobacterium tuberculosis*, provocan una profunda disbiosis del microbioma intestinal, inducida por el tratamiento con los mismos. Esta disbiosis se precipita con rapidez y deriva en pérdidas de diversidad y cambios en la abundancia de microbios intestinales. El tratamiento de la TB con HRZE en humanos y en ratones, afecta el microbioma intestinal en formas distintas y duraderas, agotando géneros específicos de bacterias beneficiosas para la respuesta del sistema inmunitario. Los efectos de la RIF en el microbioma intestinal son más drásticos que los ocasionados por INH, PZA y EMB, y provoca mayores cambios disbióticos intestinales, no sólo en cantidad, también en diversidad.

Los cambios en la microbiota intestinal y las vías metabólicas que podrían durar, en promedio, 1,2 años, con bacterias afectadas como *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* y *Coprococcus*, que se sabe que son beneficiosas para el sistema inmunológico periférico, incluida la IL-1, Modulación de IFN- γ y TH, podrían facilitar que los pacientes con TB curados se reinfecten con la enfermedad o con otras infecciones, especialmente porque la disbiosis puede persistir más de un año. La disbiosis agota las especies bacterianas que regulan el adecuado funcionamiento inmunológico, reduciendo la resistencia a Mtb, afectando las células inmunes y aumentando la proliferación de Mtb. De hecho la perturbación del microbioma inducida por HRZE, puede tener efectos significativos sobre las respuestas inmunes periféricas y el tono inmunológico sistémico general.

Todas las infecciones por Mtb tanto activas como latentes solo inducen cambios menores en la microbiota intestinal, mientras que la terapia anti-TB conduce a rápidas alteraciones en la composición, diversidad y estructura comunitaria de la microbiota. Esta disbiosis, después de la finalización de la extensa terapia antituberculosa, persiste en seres humanos durante al menos un año y medio y hasta tres años después del cese de la terapia, y revela una considerable heterogenidad interindividual en los cambios observados en la microbiota. Los pacientes sometidos a tratamiento con HRZE manifiestan reacciones adversas gastrointestinales y disfunción hepática, lo que acaba provocando un daño directo en la mucosa intestinal, produciéndose una disminución importante en la absorción del fármaco y del metabolismo hepático.

Los antituberculostáticos empleados en el tratamiento convencional de la TB inducen una disbiosis distinta y duradera, y los efectos más importantes en la microbiota intestinal producidos por el tratamiento, son atribuibles sobre todo a la RIF como el principal impulsor de las alteraciones; no obstante se han detectado efectos de INH y PZA en determinadas combinaciones de fármacos, como disminución en los macrófagos alveolares de la reserva de la capacidad respiratoria, la respiración basal y la producción de ATP, así como mayor tolerancia de estos al crecimiento de Mtb. Los efectos sobre la microbiota en suma, varían dependiendo de la administración dual de los antibióticos.

Aunque el cambio en el microbioma con la terapia anti-TB puede ser un evento reversible, dependiendo del régimen de antibióticos, el tiempo de recuperación puede variar, e incluso la exposición a un ciclo corto de antibióticos, puede conducir a nuevas poblaciones bacterianas que se estabilizan durante años en el intestino humano, estos procesos de las comunidades microbianas que regresan a su estado inicial, suelen ser incompletos. El tratamiento de la TB podría agotar diferencialmente el microbioma humano de taxones bacterianos necesarios para el mantenimiento de la respuesta de tipo 2, y la ausencia de esta respuesta en consecuencia, podría elevar el riesgo de

recurrencia. Así mismo la perturbación del microbioma intestinal inducida por fármacos anti-TB, incrementa la susceptibilidad a una reinfección posterior o al recrudecimiento de la enfermedad de TB después de curarse.

La microbiota intestinal juega un papel en la farmacocinética (PK) de los fármacos anti-TB de primera línea, modificando los niveles de expresión de transportadores y enzimas que metabolizan los fármacos y, por ende afectando la eficacia y toxicidad de los medicamentos a través de diferentes mecanismos y produciendo enzimas que se unen directamente a los fármacos, impactando su biodisponibilidad. La reconstitución probiótica parece ser una de las mejores recomendaciones para la reposición de la microbiota intestinal antes, durante y después del tratamiento con HRZE. En este sentido el desarrollo de probióticos utilizando microbios intestinales beneficiosos y su terapia combinatoria con fármacos, puede mejorar la eficacia de los fármacos antituberculosos para tratar la enfermedad y mejorar la inmunidad del huésped contra Mtb.

9. Bibliografía

1. WHO. Global Tuberculosis Report. 2020. Disponible en:
<file:///C:/Users/jospina.ASPB/Downloads/9789240013131-eng.pdf>
2. WHO. Tuberculosis. Newsroom. 14 de octubre de 2020. Disponible en:
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
3. Sharland M. SACAR Paediatric Subgroup. The use of antibacterials in children: a report of the Specialist Advisory Committee on Antimicrobial Resistance (SACAR) Paediatric Subgroup. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 60(Suppl 1):i15–26. Disponible en:
https://academic.oup.com/jac/article/60/suppl_1/i15/999041
4. European Commission. Antimicrobial resistance. Brussels: 2010. Disponible en:
https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/antimicrobial_resistance/docs/ebs_338_en.pdf
5. Gustafson RH, Bowen RE. Antibiotic use in animal agriculture. *J Appl Microbiol.* 1997; 83:531–41. Disponible en:
<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2672.1997.00280.x>
6. Hempel S, Newberry SJ, Maher AR, et al. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2012; 307:1959–69. [PubMed: 22570464]. Disponible en:
<https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/1151505>
7. Dancer SJ. How antibiotics can make us sick: the less obvious adverse effects of antimicrobial chemotherapy. *Lancet Infect Dis.* 2004; 4:611–19. [PubMed: 15451489]. Disponible en:
[https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(04\)01145-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(04)01145-4/fulltext)
8. Power SE, O'Toole PW, Stanton C, et al. Intestinal microbiota, diet and health. *Br J Nutr.* 2014; 111:387–402. [PubMed: 23931069]. Disponible en:
<file:///C:/Users/Alekosdini/Downloads/intestinal-microbiota-diet-and-health.pdf>
9. Cho I, Yamanishi S, Cox L, et al. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature.* 2012; 488:621–6. [PubMed: 22914093]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/230721978_Antibiotics_in_early_life_alter_the_murine_colonic_microbiome_and_adiposity
10. Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, et al. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol.* 2008; 6:e280. [PubMed: 19018661]. Disponible en:
<https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.0060280>
11. Antonopoulos DA, Huse SM, Morrison HG, et al. Reproducible community dynamics of the gastrointestinal microbiota following antibiotic perturbation. *Infect Immun.* 2009; 77:2367–75. [PubMed: 19307217]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2687343/>
12. Hill DA, Hoffmann C, Abt MC, et al. Metagenomic analyses reveal antibiotic-induced temporal and spatial changes in intestinal microbiota with associated

alterations in immune cell homeostasis. *Mucosal Immunol.* 2010; 3:148–58. [PubMed: 19940845]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/mi2009132>

13. Ubeda C, Taur Y, Jenq RR, et al. Vancomycin-resistant *Enterococcus* domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans. *J Clin Invest.* 2010; 120:4332–41. [PubMed: 21099116]. Disponible en: <https://www.jci.org/articles/view/43918>

14. Greer RL, Morgun A, Shulzhenko N. Bridging immunity and lipid metabolism by gut microbiota. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 132:253–62. [PubMed: 23905915]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/254263222_Bridging_immunity_and_lipid_metabolism_by_gut_microbiota

15. Hviid A, Svanstrom H, Frisch M. Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. *Gut.* 2011; 60:49–54. [PubMed: 20966024]. Disponible en: <https://gut.bmj.com/content/60/1/49>

16. Hill DA, Siracusa MC, Abt MC, et al. Commensal bacteria-derived signals regulate basophil hematopoiesis and allergic inflammation. *Nat Med.* 2012; 18:538–46. [PubMed: 22447074]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3321082/>

17. Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet.* 2012; 13:260–70. [PubMed: 22411464]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3418802/>

18. Russell SL, Gold MJ, Hartmann M, et al. Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma. *EMBO Rep.* 2012; 13:440–7. [PubMed: 22422004]. Disponible en: <http://europemc.org/article/PMC/3343350>

19. Cox LM, Yamanishi S, Sohn J, et al. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell.* 2014; 158:705–21. [PubMed: 25126780]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4134513/>

20. Brandl K, Plitas G, Mihu CN, et al. Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. *Nature.* 2008; 455:804–7. [PubMed: 18724361]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nature07250>

21. Andrey Morgun, Amiran Dzutsev, Xiaoxi Dong, Renee L Greer, D Joseph Sexton, Jacques Ravel, Martin Schuster, William Hsiao, Polly Matzinger, Natalia Shulzhenko. Uncovering effects of antibiotics on the host and microbiota using transkingdom gene networks. *Gut.* 2015 November ; 64(11): 1732–1743. doi:10.1136/gutjnl-2014-308820. Disponible en: <http://europemc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC5166700&blobtype=pdf>

22. Hu Y, Yang Q, Liu B, Dong J, Sun L, Zhu Y, Su H, Yang J, Yang F, Chen X (2019) Gut microbiota associated with pulmonary tuberculosis and dysbiosis caused by anti-tuberculosis drugs. *J Infect* 78(4):317–322. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163445318302512>

23. Wipperfurth MF, Fitzgerald DW, Juste MAJ, Taur Y, Namasivayam S, Sher A, Bean JM, Bucci V, Glickman MS (2017) Antibiotic treatment for tuberculosis induces a

profound dysbiosis of the microbiome that persists long after therapy is completed. *Sci Rep* 7(1):10767. Disponible en: <http://europepmc.org/article/MED/28883399>

24. Namasivayam S, Maiga M, Yuan W, Thovarai V, Costa DL, Mittereder LR, Wiperman MF, Glickman MS, Dzutsev A, Trinchieri G (2017) Longitudinal profiling reveals a persistent intestinal dysbiosis triggered by conventional anti-tuberculosis therapy. *Microbiome* 5(1):71. Disponible en: <https://www.scholars.northwestern.edu/en/publications/longitudinal-profiling-reveals-a-persistent-intestinal-dysbiosis->

25. Luo M, Liu Y, Wu P, Luo D-X, Sun Q, Zheng H, Hu R, Pandol SJ, Li Q-F, Han Y-P (2017) Alternation of gut microbiota in patients with pulmonary tuberculosis. *Front Physiol* 8:822. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2017.00822/full>

26. Rastogi N, David H (1993) Mode of action of antituberculous drugs and mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Res Microbiol* 144(2):133–143. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/092325089390028Z?via%3Dihub>

27. Verver S, Warren RM, Beyers N, Richardson M, Van Der Spuy GD, Borgdorff MW, Enarson DA, Behr MA, Van Helden PD (2005) Rate of reinfection tuberculosis after successful treatment is higher than rate of new tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 171(12):1430–1435. Disponible en: <https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/rccm.200409-1200OC>

28. Swanson HI (2015) Drug metabolism by the host and gut microbiota: a partnership or rivalry? *Drug Metab Dispos* 43(10):1499–1504. Disponible en: <https://dmd.aspetjournals.org/content/43/10/1499>

29. Wilkins JJ, Langdon G, McIlleron H, Pillai GC, Smith PJ, Simonsson US (2011) Variability in the population pharmacokinetics of isoniazid in South African tuberculosis patients. *Eur J Clin Pharmacol* 62(9):727–735. Disponible en: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2125.2011.03940.x>

30. Jönsson S, Davidse A, Wilkins J, Van der Walt J-S, SimonssonUS, Karlsson MO, Smith P, McIlleron H. (2011) Population pharmacokinetics of ethambutol in South African tuberculosis patients. *Antimicrob Agents Chemother* 55(9):4230–4237. Disponible en: <http://europepmc.org/article/PMC/3165318>

31. McIlleron H, Wash P, Burger A, Norman J, Folb PI, Smith P (2006) Determinants of rifampin, isoniazid, pyrazinamide, and ethambutol pharmacokinetics in a cohort of tuberculosis patients. *Antimicrob Agents Chemother* 50(4):1170–1177. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1426981/>

32. Graham S, Bell DJ, Nyirongo S, Hartkoorn R, Ward S, Molyneux E (2006) Low levels of pyrazinamide and ethambutol in children with tuberculosis and impact of age, nutritional status, and human immunodeficiency virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 50(2):407–413. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1366879/>

33. Namasivayam S, Diarra B, Diabate S, Sarro YdS, Kone A, Kone B, et al. (2020) Patients infected with *Mycobacterium africanum* versus *Mycobacterium tuberculosis* possess distinct intestinal microbiota. *PLoS Negl Trop Dis* 14(5): e0008230. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008230>

34. Tan T, Little P, Stokes T, *et al.* Antibiotic prescribing for self limiting respiratory tract infections in primary care: summary of NICE guidance. *BMJ* 2008;337:a437.
35. McDonald LC. Effects of short- and long-course antibiotics on the lower intestinal microbiome as they relate to traveller's diarrhea. *J Travel Med* 2017;24:S35–8.
36. Higgins J, Green S. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration, 2011.
37. Shikha Negi, Susanta Pahari, Hilal Bashir, N. Agrewala. Intestinal microbiota disruption limits the isoniazid mediated clearance of *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Eur. J. Immunol.* 2020. 00: 1–12 DOI: 10.1002/eji.202048556.
38. Wenpei Shi, Yi Hu, Xubin Zheng, Zhu Ning, Meiyong Wu, Fan Xia, Stefanie Prast-Nielsen, Yue O. O. Hu, Biao Xu. Longitudinal profiling of gut microbiome among tuberculosis patients under antituberculosis treatment in China: protocol of a prospective cohort study. Shi *et al.* *BMC Pulmonary Medicine* (2019) 19:211. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12890-019-0981-9>
39. Becattini S, Taur Y, Pamer EG. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends Mol Med.* 2016;22(6):458–78.
40. Hong BY, Maulen NP, Adami AJ, Granados H, Balcells ME, Cervantes J. Microbiome changes during tuberculosis and Antituberculous therapy. *Clin Microbiol Rev.* 2016;29(4):915–26.
41. Weiran Li, Yu Zhu, Qiong Liao, Zhiling Wang* and Chaomin Wan. Characterization of gut microbiota in children with pulmonary tuberculosis. Li *et al.* *BMC Pediatrics* (2019) 19:445, doi: 1186/s12887-019-1782-2
42. Winglee K, Eloefadros E, Gupta S, Guo H, Fraser C, Bishai W. Aerosol mycobacterium tuberculosis infection causes rapid loss of diversity in gut microbiota. *PLoS One.* 2014;9(5):e97048.
43. Ronan F. O'Toole, Sanjay S. Gautam. The host microbiome and impact of tuberculosis chemotherapy. *Tuberculosis* 113 (2018) 26–29.
44. Schirmer, M. *et al.* Linking the Human Gut Microbiome to Inflammatory Cytokine Production Capacity. *Cell* **167**, 1897, doi:10.1016/j.cell.2016.11.046(2016).
45. Osagie A. Eribo, Nelita du Plessis, Mumin Ozturk, Reto Guler, Gerhard Walzl, Novel N. Chegou. The gut microbiome in tuberculosis susceptibility and treatment response: guilty or not guilty. *Cellular and Molecular Life Sciences* (2020) 77:1497–1509.
46. Hu Y, Feng Y, Wu J, Liu F, Zhang Z, Hao Y, Liang S, Li B, Li J, Lv N (2019) The gut microbiome signatures discriminate healthy from pulmonary tuberculosis patients. *Front Cell Infect Microbiol* 9:90
47. Bloom CI, Graham CM, Berry MP, Wilkinson KA, Oni T, Rozakeas F, *et al.* Detectable changes in the blood transcriptome are present after two weeks of antituberculosis therapy. *PLoS One.* 2012; 7(10):e46191. Epub 2012/10/12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046191> PMID: 23056259; PubMedCentral PMCID: PMC3462772.

48. Namasivayam S, Sher A, Glickman MS, Wipperman MF. The Microbiome and Tuberculosis: Early Evidence for Cross Talk. *mBio*. 2018; 9(5). Epub 2018/09/20. <https://doi.org/10.1128/mBio.01420-18> PMID: 30228238.
49. Naidoo CC, Nyawo GR, Wu BG, Walzl G, Warren RM, Segal LN, et al. The microbiome and tuberculosis: state of the art, potential applications, and defining the clinical research agenda. *Lancet Respir Med*. 2019. Epub 2019/03/27. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(18\)30501-0](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(18)30501-0) PMID: 30910543.
50. John Osei Sekyere, Nontuthuko E. Maningi, and Petrus B. Fourie. Mycobacterium tuberculosis, antimicrobials, immunity, and lung-gut microbiota cross-talk: current updates and emerging advances. doi: 10.1111/nyas.14300. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1467 (2020) 21–47 © 2020 New York Academy of Sciences.
51. Jernberg C, Lofmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*. 2010;156(Pt 11):3216–23.
52. Vrieze A, Out C, Fuentes S, Jonker L, Reuling I, Kootte RS, van Nood E, Holleman F, Knaapen M, Romijn JA, et al. Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity. *J Hepatol*. 2014;60(4):824–31.
53. Moya, A. & Ferrer, M. Functional Redundancy-Induced Stability of Gut Microbiota Subjected to Disturbance. *Trends Microbiol* **24**,402–413, doi:10.1016/j.tim.2016.02.002(2016).
54. Dubourg G, Lagier JC, Armougom F, Robert C, Hamad I, Brouqui P, Raoult D. 2013. The gut microbiota of a patient with resistant tuberculosis more comprehensively studied by culturomics than by metagenomics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 32:637–645. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-012-1787-3>.
55. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjolund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. 2010. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One* 5:e9836. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0009836>.
56. Dethlefsen L, Relman DA. 2011. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(Suppl 1):4554–4561. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1000087107>.
57. Charissa C Naidoo, Georgina R Nyawo, Benjamin G Wu, Gerhard Walzl, Robin M Warren, Leopoldo N Segal, Grant Theron. The microbiome and tuberculosis: state of the art, potential applications, and defining the clinical research agenda. *Lancet Respir Med* 2019, March 22, 2019 [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(18\)30501-0](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(18)30501-0)
58. Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature* 2018; **555**: 623.
59. Khan, N. et al. 2019. Intestinal dysbiosis compromises alveolar macrophage immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Mucosal Immunol*. **12**: 772–783.
60. Cash, H. L., Whitham, C. V., Behrendt, C. L. and Hooper, L. V., Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science* 2006. 313: 1126–1130.

61. Cavalcanti, Y. V., Brelaz, M. C., Neves, J. K., Ferraz, J. C. and Pereira, V. R., Role of TNF-alpha, IFN-gamma, and IL-10 in the development of pulmonary tuberculosis. *Pulm. Med.* 2012. 2012: 745483.
62. Biraro, I. A., Egesa, M., Kimuda, S., Smith, S. G., Toulza, F., Levin, J., Joloba, M. et al., Effect of isoniazid preventive therapy on immuneresponses to *Mycobacterium tuberculosis*: an open label randomised, controlled,exploratory study. *BMC Infect. Dis.* 2015. 15: 438.
63. Brennan PJ, Young DB. 2008. Pyrazinamide. *Tuberculosis* 88:141–144. [https://doi.org/10.1016/S1472-9792\(08\)70021-0](https://doi.org/10.1016/S1472-9792(08)70021-0).
64. Dumas A, Corral D, Colom A, Levillain F, Peixoto A, Hudrisier D, Poquet Y, Neyrolles O (2018) The host microbiota contributes to early protection against lung colonization by *Mycobacterium tuberculosis*. *Front Immunol* 9:2656
65. Honda K, Littman DR (2016) The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature* 535(7610):75
66. Segal, L.N. et al. 2017. Anaerobic bacterial fermentation products increase tuberculosis risk in antiretroviral-drug treated HIV patients. *Cell Host Microbe* 21: 530–537.e4.
67. Glynn, J. R. et al. High rates of recurrence in HIV-infected and HIV-uninfected patients with tuberculosis. *J Infect Dis* 201, 704–711, doi:10.1086/650529 (2010).
68. Tousif, S., Singh, D. K., Ahmad, S., Moodley, P., Bhattacharyya, M., VanKaer, L. and Das, G., Isoniazid induces apoptosis of activated CD4+ T cells: implications for post-therapy tuberculosis reactivation and reinfection. *J. Biol. Chem.* 2014. 289: 30190–30195.
69. Carmody RN, Turnbaugh PJ (2014) Host-microbial interactions in the metabolism of therapeutic and diet-derived xenobiotics. *J Clin Invest* 124(10):4173–4181
70. Pierantozzi M, Pietroiusti A, Brusa L, Galati S, Stefani A, Lunardi G, Fedele E, Sancesario G, Bernardi G, Bergamaschi A (2006) Helicobacter pylori eradication and l-dopa absorption in patients with PD and motor fluctuations. *Neurology* 66(12):1824–1829
71. Klaassen CD, Cui JY (2015) Mechanisms of how the intestinal microbiota alters the effects of drugs and bile acids. *Drug Metab Dispos* 43(10):1505–1521
72. Wu S, Jiang Z-Y, Sun Y-F, Yu B, Chen J, Dai C-Q, Wu X-L, Tang X-L, Chen X-Y (2013) Microbiota regulates the TLR7 signaling pathway against respiratory tract influenza A virus infection. *Curr Microbiol* 67(4):414–422