La represión de las bombas de eflujo mediada por CRISPRi revela que *Rv1258c* es un factor clave en la resistencia a la pirazinamida en *Mycobacterium tuberculosis*

Alonso Flores Bancayan[1][0009-0000-9359-2487], Kiara Aricoché Del Campo[1 [0009-0004-8097-694X]], Robert H. Gilman[2][0000-0002-3704-9217], Mirko Zimic[1][0000-0002-7203-8847], Patricia Sheen[1][0000-0002-7118-9301]

[1] Universidad Peruana Cayetano Heredia, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Laboratorio de Bioinformática, Biología Molecular y Desarrollos Tecnológicos, Laboratorios de Investigación y Desarrollo

[2] Departamento de Salud Internacional, Escuela de Salud Pública Bloomberg, Universidad Johns Hopkins

Resumen

La resistencia a pirazinamida (PZA) en tuberculosis (TB) complica su tratamiento. PZA es un profármaco que se convierte en ácido pirazinoico (POA) mediante la enzima pirazinamidasa (PZAsa), codificada por el gen *pncA.* Aproximadamente el 70% de la resistencia se debe a mutaciones en *pncA*, mientras que el resto se asocia a otros mecanismos, como las bombas de eflujo que expulsan POA. Se ha reportado que la sobreexpresión de genes como *Rv0191, Rv3756c, Rv3008* y *Rv1667c,* o mutaciones en *Rv1258c*, aumentan la resistencia a PZA.

Este estudio utilizó interferencia por CRISPR (CRISPRi) para reprimir transcripcionalmente cinco genes de bombas de eflujo previamente asociados con la resistencia a la PZA *Rv0191, Rv3756c, Rv3008, Rv1667c* y *Rv1258c*. Se realizaron ensayos de Wayne para cuantificar la concentración extracelular de POA en condiciones ácidas, y la prueba TEMA para evaluar la susceptibilidad a PZA.

Entre ellos, solo la represión de *Rv1258c* condujo a una reducción significativa de la expulsión de POA en condiciones ácidas y aumentó la susceptibilidad a la PZA bajo las mismas condiciones. Los demás genes de bombas de eflujo no mostraron un efecto consistente sobre la expulsión de POA ni sobre una variación en la susceptibilidad a PZA, probablemente debido a una represión insuficiente o a la redundancia funcional. Estos hallazgos destacan a *Rv1258c* como un contribuyente relevante en la expulsión de POA y respaldan el valor potencial de dirigir terapias contra los mecanismos de eflujo para mejorar la eficacia de la PZA.

Palabras clave: CRISPRi, *Mycobacterium tuberculosis*, pirazinamida, resistencia, bomba de eflujo.