

Revisión

Nuevas vacunas contra la tuberculosis obtenidas a partir de los avances inmunitarios y genéticos

A. BLANCO QUIRÓS

Área de Pediatría. Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM). Universidad de Valladolid

RESUMEN

Más de 2/3 de la población mundial está infectada por el *M. tuberculosis* (Mtb) y en 1993 la OMS declaró la tuberculosis como una emergencia mundial.

La vacuna de BCG tiene una eficacia muy variable, seguramente por la interferencia de infecciones por micobacterias atípicas, además, su protección es transitoria (10-20 años) y no se puede aplicar en personas ya infectadas. Recientemente, se hicieron importantes avances en el conocimiento del genoma del Mtb, identificándose regiones deletionadas (RD) durante la preparación de la BCG. También se conoce mejor la respuesta inmunitaria antituberculosa, basada en linf. Th1 y síntesis de IL-12, IL-18 e IFN γ , y que tiene distintas células efectoras en la fase aguda (HLA-II y CD4+) y en la fase crónica (HLA-I y CD8+). En base a estos conocimientos, se han propuesto más de 200 nuevas vacunas, con microorganismos vivos (BCG reforzada, Mtb mutante) o con subunidades (proteínas, ADN o proteínas de fusión). Sin embargo, conseguir una vacuna que supere la BCG es una tarea difícil porque el Mtb convive con el hombre desde hace miles de años y ha conseguido establecer múltiples sistemas de escape a la respuesta inmunitaria.

Palabras clave: alergia; BCG; genética; inmunidad; tuberculosis; vacunas.

ABSTRACT

More than 2/3 of the world population is infected by *M. tuberculosis* (Mtb), and the WHO declared the tuberculosis as "world emergency" in 1993.

The efficacy of BCG vaccine is very variable; likely due to the interference with atypical mycobacteria, besides its protection is transient (10-20 y.) and the vaccine cannot be administered to infected already individuals. Recently, important advances in the genetics of Mtb were done, with the identification of genetic regions (RD), which were deleted during the BCG preparation. The immunity is also better known. The response is based on linf. Th1 and synthesis of IL-12, IL-18 and IFN γ . The effector cells are different during the acute (HLA-II and CD4+) and the chronic phase (HLA-I and CD8+). In base of this knowledge more than 200 new vaccines have been proposed, with life microorganisms (reinforced BCG, mutant Mtb) or subunit vaccines (protein, DNA or fusion proteins). Nevertheless, to get a vaccine better than BCG is a difficult task because Mtb lives with

Correspondencia: Alfredo Blanco Quirós. Facultad de Medicina. Pediatría. C/ Ramón y Cajal, 5. 47005 Valladolid.

Correo electrónico: ablanco@ped.uva.es

Recibido: enero 2006. Aceptado: enero 2006

© 2006 Sociedad de Pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León

Éste es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Reconocimiento-NoComercial de Creative Commons (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.1/es/>), la cual permite su uso, distribución y reproducción por cualquier medio para fines no comerciales, siempre que se cite el trabajo original.

humans for thousand years and it has achieved many escape systems to immune response.

Key words: allergy; BCG; genetics; immunity; tuberculosis; vaccines.

GENERALIDADES DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA

Microorganismo causal

La tuberculosis está producida por el *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), descubierto en 1882 por Koch⁽¹⁾. Otras micobacterias relacionadas son la *M. bovis*, la *M. africanum* y la *M. ulcerans*. Las llamadas micobacterias atípicas infectan al hombre, provocan una respuesta inmune, pero rara vez ocasionan enfermedad, salvo en inmunodeficiencias, como la infección por VIH⁽²⁾.

Aunque han sido identificados los genomas de la Mtb y de la vacuna de BCG, persisten las dudas porque un 40% de sus genes todavía no se sabe para qué sirven⁽³⁾. Los avances genéticos han servido para conocer las diferencias entre BCG y Mtb, pero determinados segmentos repetitivos o MIRUS (*Mycobacterial Interspersed Repetitive Units*) sirven para tener datos epidemiológicos de la cepa infectante y para distinguir entre reactivación y reinfección⁽⁴⁾.

Epidemiología

Un tercio de la población mundial (> 2.000 millones) está infectada de tuberculosis, y el 75% de ellos se acumulan en 22 países⁽⁵⁾. Cada año enferman unos 8 millones de personas y mueren 2 millones (Fig. 1).

En España la incidencia de la tuberculosis pulmonar viene manteniendo tasas de 15-18/100.000 habitantes, sin que la emigración y el SIDA la hayan incrementado, pero frenándose su tendencia anterior descendente. Aproximadamente el 10% ocurren en niños, alcanzando el 18-20%, si ampliamos el rango hasta los 20 años de edad. Hay revisiones muy recientes sobre tuberculosis infantil destacándose la sabida influencia que las condiciones familiares tienen en ella^(5,6).

La OMS declaró la tuberculosis como una “emergencia sanitaria global” en 1993⁽¹⁾ y desde entonces se han multiplicado las investigaciones experimentales y ensayos clínicos. Los principales avances se han producido en la genética de la Mtb y en los mecanismos inmunitarios, lo que ha

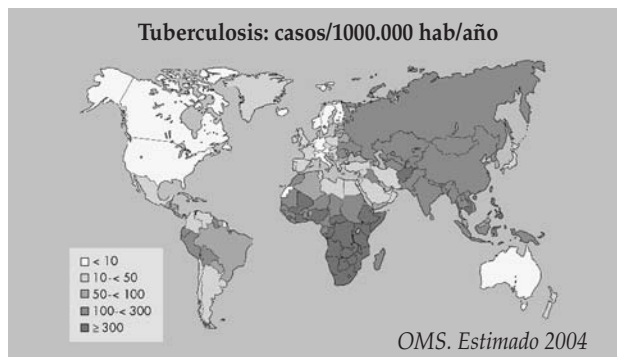


Figura 1. La tuberculosis está extendida por todo el mundo pero las tasas de incidencia son muy variables. Es inferior a 10 casos por 100.000 habitantes en América del Norte y países escandinavos y muy elevada en el África sub-sahariana.

TABLA I. CAUSAS DE SUSCEPTIBILIDAD A LA TUBERCULOSIS

Factores ambientales	Factores genéticos
Condiciones socio-ambientales <ul style="list-style-type: none"> • Pobreza 	Confirmados <ul style="list-style-type: none"> • HLA-DRB1 • Receptor Vit. D1 • IFNγ • NRAMP-1
Enfermedades concurrentes <ul style="list-style-type: none"> • Inmunodeficiencias • (Def. IL-12 /IFNγ) • Corticoterapia • Diabetes • Algunas neumopatías crónicas • Hipercolesterolemia • Insuficiencia renal 	En estudio <ul style="list-style-type: none"> • Catepsina-Z • SP-110 • Sistema TLR (TIRAP) • Receptor C1 (CD35)

repercutido muy positivamente sobre nuevas vacunas y estrategias vacunales.

Susceptibilidad

La infección tuberculosa tiene mayor riesgo en ciertos grupos poblacionales y en determinados individuos. La existencia de una diferente susceptibilidad se conoce desde hace años, pero la influencia exacta de esos factores de riesgo, ambientales y genéticos, no está suficientemente aclarada (Tabla I).

a. Factores ambientales. Se sabe que la mala condición socioambiental es un factor favorecedor; la tuberculosis es una enfermedad asociada a la pobreza⁽⁷⁾. En este concepto se incluye la situación higiénica, pero también influye el estado nutricional, hábitos como el tabaco y la asociación de otras enfermedades. La tuberculosis siempre se relacionó con el padecimiento de algunas neumopa-

tías crónicas, con la diabetes, insuficiencia renal, tratamientos con corticoterapia y, más recientemente, también con la hipercolesterolemia^(8,9). Por supuesto, cualquier deficiencia inmunitaria, genética o adquirida, siempre es un importante factor de riesgo. Entre ellas el SIDA tiene una eminente relevancia sanitaria, pero también científica, p. ej., aclarar la paradoja por la que la tuberculosis empeora al comenzar el tratamiento anti-retroviral⁽⁷⁾.

b. Factores genéticos. El estudio de los factores genéticos de susceptibilidad a la tuberculosis es más reciente. Las diferencias raciales eran conocidas de antiguo, pero se atribuyeron al mayor o menor contacto histórico con el *Mtb*; ahora estamos en condiciones de diferenciar esa supuesta memoria inmunológica colectiva de una auténtica diferencia genética.

Se han comunicado muchas mutaciones asociadas a susceptibilidad para la tuberculosis. Algunas están sin confirmar por otros autores y en otras poblaciones, pero ya hay cierta coincidencia para otras. De momento parecen tener mayor peso los hallazgos en genes relacionados con el antígeno HLA-DRB1, con el receptor de la vitamina D y del interferón gamma y con la molécula NRAMP-1 (ahora denominada SLC11A1) que se expresa en fagocitos activados y para la que existen al menos 11 polimorfismos en el hombre, con repercusión funcional⁽¹⁰⁾. La razón biológica de alguna de estas mutaciones con la tuberculosis es compleja de entender.

VACUNA DE BCG

Es la decana de las vacunas actualmente en uso, habiendo sido administrada a más de 2.000 millones de personas.

Historia

La vacuna de BCG se llama así por estar compuesta por el bacilo de Calmette y Guerin. Albert Calmette (Niza, 1863-París, 1933) y Camille Guerin (Poitiers, 1872-París, 1961) respectivamente, médico y veterinario (Fig. 2), trabajaron juntos desde el año 1907 a 1919 en la atenuación de bacilos de *M. bovis* realizando 230 cultivos sucesivos en un medio de glicerina, patata y bilis hasta conseguir la pérdida de su patogenicidad, manteniendo la antigenicidad⁽¹¹⁾. Tras múltiples pruebas en animales, a partir de 1921 comenzó su aplicación humana⁽¹²⁾.



A. Calmette (1863-1933)



Camille Guerin (1872-1961)

Figura 2. Albert Calmette (Niza, 1863-París, 1933). Se graduó en medicina en la Universidad de París (1886). Fue discípulo de Pasteur y fundó el Instituto Pasteur de Saigón en 1891, donde descubrió un antisuero contra veneno de serpiente. De vuelta a Francia creó y dirigió el Instituto Pasteur de Lille (1896-1919), donde preparó, con Guerin, bacilos de *M. bovis* atenuados en cultivos en un medio sólido con bilis (1908). Esas cepas se emplearon 15 años más tarde para preparar la vacuna de BCG.

Camille Guerin (Poitiers, 1872-París, 1961). Estudió veterinaria y fue a trabajar con Calmette a Lille (1897) dedicándose en exclusiva al campo de las vacunas. Postuló que la resistencia a la tuberculosis se debía a la persistencia de bacilos vivos en el organismo y colaboró con Calmette en la preparación de la BCG que ensayó por primera vez en recién nacidos del Hospital de la Charité, de París (1922). Tras superar los problemas administrativos, en 1930 comenzaron las campañas masivas en Europa, Canadá, Japón, Rusia y otros países, pero se aprobó en EE.UU. hasta 1950.

Calmette y Guerin obtuvieron su vacuna de forma empírica desconociendo en qué radicaba el diferente comportamiento entre el patógeno, *Mtb*, y su vacuna. Sólo ahora, con los avances genéticos y el descubrimiento del genoma del *Mtb*, se sabe que en los sucesivos pases se iban perdiendo genes y que en ello radica la atenuación de patogenicidad. Sin embargo, la BCG aún comparte más del 90% de su ADN con el *Mycobacterium tuberculosis*⁽¹³⁾.

Preparado vacunal

La vacuna original que Calmette y Guerin prepararon en el Instituto Pasteur fue con posterioridad ligeramente modificada en otros centros, denominándose las cepas resultantes con el nombre del lugar donde se hizo. En España se utiliza un preparado procedente de la cepa Danesa 1331, que es considerada, junto con la Pasteur 1173PA, como de alta inmunogenicidad y virulencia, comparando la Glaxo 1077 y Tokio 172, que serían las “débiles”⁽⁷⁾. Los estudios moleculares han descubierto las diferencias genéticas que

TABLA II. ALGUNOS DE LOS PRINCIPALES ESTUDIOS SOBRE LA EFICACIA DE LA BCG

Año	Lugar	Número	Edad	Duración	Eficacia
1935	EE.UU. (pobl. indígena)	3.008	0-20 a.	9-11 a.	80%
1950	Inglaterra (pobl. urbana)	54.239	14-15 a.	15 a.	77%
1949	Puerto Rico (pobl. escolar)	77.972	1-18 a.	6 a.	31%
1950	India. Madapanelle (pobl. general)	10.877	Todas	12 a.	31%
1950	Georgia/Alabama (pobl. general)	34.767	> 5 a.	14 a.	14%
1968	India. Chingleput (pobl. general)	215.000	Todas	15 a.	0%

De Soza y col. *Vacunas en Pediatría*. AEP 2005. p. 385.

se fueron produciendo entre unas y otras cepas de BCG.

Técnica de administración

La administración de la BCG varió poco durante su larga historia. En los recién nacidos se aplica a 2 cm del vértice del hombro izquierdo, y a 4 cm en los escolares. Se inyecta por vía intradérmica en cantidad variable según la edad (0,05 mL en RN y lactantes y 0,1 en escolares). Una dosis contiene 10^8 bacilos/mg de BCG que proporcionan 5×10^6 a 45×10^6 unidades formadoras de colonias⁽²⁾. A las 2-4 semanas de la vacunación se produce un nódulo local que luego se convierte en vesícula y costra. A partir de las 6-12 semanas persiste una cicatriz decolorada de unos 3 mm de diámetro.

Reacciones secundarias

La BCG es bien tolerada por la mayoría de los vacunados, incluso recién nacidos. Sin embargo, tienen efectos secundarios, generalmente locales y leves, pero que pueden llegar a ser mortales al ser una vacuna de microorganismos vivos. Las reacciones más comunes son inflamaciones en el lugar de la inyección, o en algún ganglio satélite axilar⁽¹⁴⁾. Son adenopatías blandas, adherentes y con tendencia a la supuración, parecidas a las halladas en la tuberculosis natural. A veces se cronifican y precisan limpieza quirúrgica.

Mucho más raras, pero gravísimas, son las diseminaciones vacunales o becegeítis. Con frecuencia son mortales y cuando se superan pueden persistir secuelas en SNC, huesos, pulmón u otros órganos. La causa de la diseminación vacunal, como la de la tuberculosis natural, es mal conocida. Sólo en algunas personas coincide con una inmunode-

ficiencia bien definida, pero en la mayoría es la primera manifestación de infección grave. Recientemente se han publicado datos recogidos en Canadá entre 1993-2002, comentándose que las reacciones secundarias de la BCG son más frecuentes de lo que suele pensarse⁽¹⁵⁾.

Indicaciones y contraindicaciones

La indicación universal depende del riesgo de infección tuberculosa que ocurra en el país y la indicación individual de la existencia de un contacto mantenido e inevitable con una persona enferma⁽¹⁶⁾.

Las contraindicaciones más comunes son las siguientes⁽²⁾:

- Prematuros con menos de 2.000 g al nacimiento.
- Inmunodeficientes o inmunosuprimidos.
- Enfermos de SIDA (salvo casos de muy alto riesgo).
- Enfermos de tuberculosis o infectados con tuberculina positiva.
- Embarazo, al menos en el primer trimestre.

Eficacia de la BCG

La variable eficacia que la BCG tiene en humanos es llamativa cuando, por el contrario, siempre es protectora en los animales⁽¹³⁾. Está aceptado que protege más de la diseminación, meningitis y miliar (46-100%), que de la enfermedad pulmonar (0-80%) y más de la enfermedad que de la infección (17), si es que realmente protege de la infección porque es muy discutido^(7,18). Además, hay claras diferencias poblacionales o geográficas. Algunos metaanálisis mostraron una menor protección en los países cercanos al ecuador que en los alejados (Tabla II)⁽¹⁹⁾.

TABLA III. ALGUNAS RAZONES PROPUESTAS PARA EXPLICAR LA VARIABLE EFICACIA DE LA BCG

- Diferencias en cepas, dosis o pautas
- Administración a individuos ya infectados
- Interacción con micobacterias atípicas
- Interferencia de parásitos
- Predominio de estímulo Th2
- Variabilidad genética de la población

De Andersen y col. *Trends Immunol* 2001.

Con independencia de posibles errores técnicos o estadísticos, cada vez es más firme que las infecciones latentes por Mtb, o por micobacterias atípicas, interfieren con la respuesta vacunal^(13,20). En base a ello, la eficacia será menor en los países con mayor índice de infección por micobacterias. El mecanismo de esta interferencia no se conoce bien, pero se han planteado hipótesis. Durante la infección por micobacterias atípicas podrían liberarse citoquinas Th2, que interfieren la respuesta a la BCG⁽²¹⁾ o, quizás, puede que todos los importantes mecanismos evasivos de la respuesta inmunitaria que las micobacterias desarrollaron en su evolución, los apliquen también a la vacuna. Parece comprobado que la variable inhibición depende del número y tipo de antígenos que compartan las micobacterias atípicas con la BCG (Tabla III)⁽²⁰⁾.

A nivel individual, en un estudio realizado en 230 niños vacunados de BCG, se vio, que, además de la convivencia con enfermos, las siguientes causas de fracaso vacunal eran el hacinamiento y el tabaquismo pasivo, factor éste menos valorado y que eleva 9,3 veces el riesgo⁽⁸⁾.

De todas formas, cualquiera que sea su eficacia, la protección obtenida por la BCG es transitoria. Está comprobado que no dura más allá de 10-20 años, aunque haya situaciones particulares pues, en un estudio hecho en Alaska, la protección en indios navajos vacunados entre 1935-38 se mantenía 60 años más tarde⁽²²⁾.

CEPAS BCG

En 1960, la OMS recomendó liofilizar las cepas de BCG para preservar su estabilidad, pero hasta ese momento, al no poder congelarse, las cepas eran mantenidas vivas por medio de cultivos permanentes, lo que facilitó su variabilidad genética (Fig. 3)⁽²⁾.

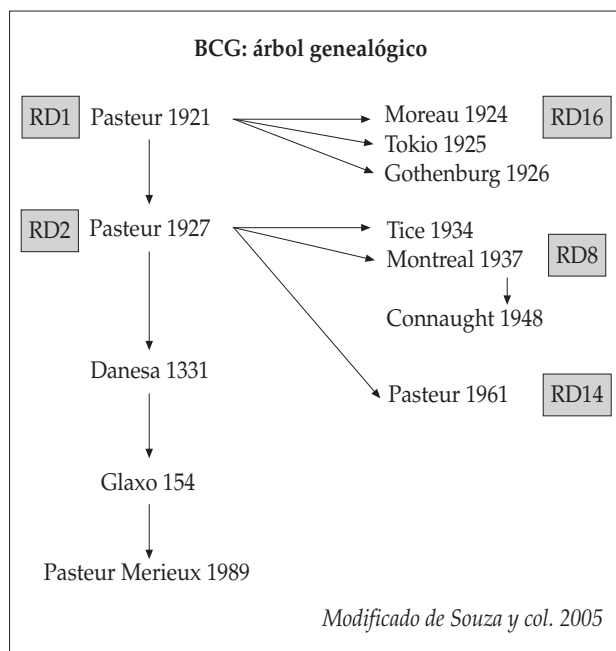


Figura 3. La vacuna primitiva de BCG se perdió en la Primera Guerra Mundial, pero ha sido posible inferir su composición. Hasta el año 1960, las cepas se conservaban mediante cultivos permanentes, lo que facilitó alguna pérdida genética. En los primeros momentos se perdió la región delecionada-1 (RD1), que falta en todas las cepas. Además, la RD2 falta en todas las derivadas de Pasteur, 1927. En España se utiliza una cepa derivada de la Danesa 1331 (Farmacia y Upjohn), por consiguiente, con ausencia de RD2, pero presencia de RD8, RD14 y RD16 que falta en otras.

Variaciones. Las modificaciones genéticas se produjeron incluso en la BCG vigilada en el Instituto Pasteur, siendo probable que algunas hayan perdido potencial protector desde la vacuna original de Calmette y Guérin⁽²⁾. No obstante, aquel preparado se perdió en la I Guerra Mundial por lo que hablamos de comparaciones aproximadas⁽¹¹⁾. Una reciente reconstrucción de la situación genética ha comprobado que en la BCG hay varias regiones delecionadas (RD3, RD4, RD5, RD6, RD7, RD9, RD10, RD11, RD12, RD13, y RD15). Además, en el propio Instituto Pasteur, en los primeros años, también se perdió la RD1. Luego, entre 1927-1931 se perdió la RD2, que codifica el gen MPT-64, que estaba en la cepa primitiva y que falta en las derivadas de Pasteur 1927 y persiste en otras (Moreau, Tokio y Rusia)⁽²⁾. La RD8 se perdió en Montreal (1937-1948) y falta en la cepa Connaught-Frappier, la RD14 falta en la Pasteur 1961 y la RD16, ausente en la Moreau, se perdió en Brasil o Uruguay

después de 1925⁽¹¹⁾. La falta de RD1+RD2 es la situación que presenta la cepa danesa empleada en España, y que se supone se mantuvo invariable desde 1931⁽¹¹⁾.

Hay genes importantes ausentes en todas las cepas de BCG, como la delección de 16 fragmentos ORF (*Open Reading Frames*), que incluyen la codificación de las moléculas ESAT-6 (*Early Secretory Antigenic Target*) y CFP10, que se expresan juntas en la superficie de la Mtb, en forma de doble hélice y cuyo papel patogénico no está claro pero se supone muy interesante⁽²³⁾.

Mecanismo de la atenuación. Este mecanismo es parcialmente conocido pues no se sabe la función de muchas proteínas del bacilo. Se ha dicho que las delecciones genéticas del bacilo BCG le impiden adaptarse continuamente a la respuesta inmunitaria del organismo, como hace el Mtb, por ello tiene una vida limitada y acaba muriendo⁽¹¹⁾. Por desgracia el mecanismo que le otorga su atenuada patogenicidad es el mismo que limita su eficacia protectora en el tiempo (10-20 años), salvo quizás en individuos con una peculiar o limitada respuesta, como los indios navajos.

INMUNODEFICIENCIA Y BECEGEÍTIS

La aplicación de BCG en recién nacidos con el resultado de una diseminación grave y posterior fallecimiento es un suceso común en niños portadores de inmunodeficiencias combinadas y severas (IDCS), sin diagnóstico previo. Esto hizo pensar que las becegeítis mortales se debían a inmunodeficiencias graves, pero esta aseveración no es totalmente cierta. En una revisión publicada en 1995, sobre 121 niños con diseminación de la BCG sólo un 37% presentaban IDCS, seguido de un 9% de granulomatosis crónica y un 3% de SIDA (Fig. 4). Lo llamativo es que un 50% no aparentaban sufrir ningún tipo de alteración inmune^(24,25).

Más tarde se comprobó la asociación de diseminación de BCG, o de tuberculosis, con una alteración de la vía IL-12/IFN γ , que es fundamental en la respuesta tipo Th1⁽²⁶⁾. La anomalía incluye fallos en la expresión de citoquinas implicadas, de las cadenas de sus receptores y de moléculas (STAT1) de la vía intracelular de activación⁽⁸⁾. Los defectos mejor conocidos son los de las cadenas de los receptores R1 y R2 del IFN γ , que ocasionan alteraciones inmunitarias de distinta intensidad⁽¹³⁾. Este tipo de deficiencias debe ser inves-

tigado en cualquier caso de infección por micobacterias de curso anómalo, así como por otros microorganismos que también utilizan una similar respuesta Th1, como las salmonelas.

INMUNIDAD CONTRA LA TUBERCULOSIS

Inmunopatología

La Mtb penetra por los alvéolos induciendo la producción de un granuloma formado por un escaso número de neutrófilos rodeado por macrófagos y más tarde por linfocitos⁽²⁷⁾. Eventualmente la hipoxia en un tejido enriquecido en TNF α ocasiona la necrosis del centro del granuloma que se elimina originando la típica caverna^(14,28). Parece que la rápida activación inmunitaria ocurre gracias a la interacción de moléculas expresadas en la superficie de las micobacterias con los receptores TLR (*Toll-like receptors*), particularmente TLR2^(27,29).

Curiosamente, la Mtb ha podido sobrevivir a lo largo de siglos utilizando la propia respuesta inmune que desencadena. Sin ella, sin la formación de cavernas y sin la enorme cantidad de microorganismos que estas lesiones eliminan con la tos, no hubiera podido diseminarse. Por ejemplo, la tuberculosis en el SIDA es muy grave para el individuo pero, al no causar cavernas, su transmisión es menor⁽²⁷⁾.

Respuesta inmunitaria

La respuesta en la fase aguda es diferente de la mantenida en las formas latente o crónica. Las células CD4+ son las que presentan mayor importancia protectora en la fase aguda. Liberan citoquinas que activan otras células, macrófagos y linfocitos, incluso a los mismos CD4+. La supuesta secuencia consiste en liberación de IL-12 e IL-18 por parte de macrófagos, la activación de CD4+ con producción masiva de IFN γ y TNF α que, a su vez, activan más monocitos^(14,30). En definitiva, se origina una retroactivación que debería ser suficiente para eliminar los bacilos, pero en muchos casos no es así⁽²⁷⁾ (Fig. 5).

El IFN γ se produce en los linfocitos CD4 y CD8 y, en condición de necesidad, también en otras células (NK; linf. CD3+/CD4-/CD8-; poblaciones CD1, etc.). Facilita la destrucción de las Mtb dentro de los macrófagos por diferen-

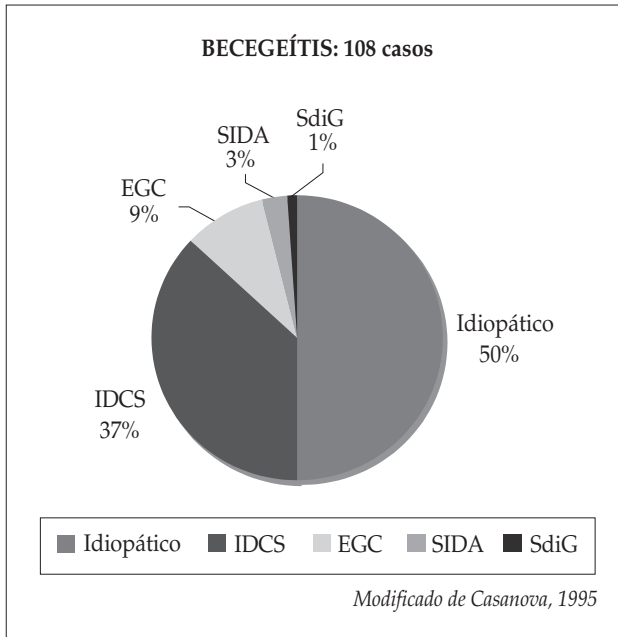


Figura 4. Las diseminaciones secundarias a vacunaciones de BCG siempre se asociaron a deficiencias inmunitarias, concretamente a inmunodeficiencias combinada y severa (IDCS). Sin embargo, esta anomalía sólo ocurre en un tercio de los casos. Actualmente se sabe que son más comunes los fallos de la vía IL-12-IFN γ .

tes vías, incluida la síntesis de derivados del nitrógeno, especialmente óxido nítrico. Aunque es fundamental en la defensa contra la tuberculosis se ha comprobado que por sí solo es insuficiente⁽³⁰⁾. También es importante la intervención del TNF α , que se libera localmente de forma precoz e intensa. Una prueba indirecta, pero fidedigna, de su importancia es la experiencia de reactivaciones tuberculosas en pacientes con artritis reumatoidea tratados con anticuerpos monoclonales anti-TNF α , Infliximab⁽³¹⁾. Por otro lado, el TNF α contribuye junto con otros mecanismos a la apoptosis celular, mecanismo defensivo importante si se tiene en cuenta que el 90% de las células efectoras de la respuesta inmune mueren, y con ellas las Mtb que pudieran haber fagocitado⁽³⁰⁾.

En la tuberculosis el fracaso defensivo no es de fallos inmunitarios, sino de los múltiples sistemas que la Mtb ha adquirido a lo largo de los siglos para superar la defensa inmunitaria y que intervienen en cada uno de los niveles de la respuesta, desde la síntesis de citoquinas a la destrucción intracelular de los Mtb fagocitadas en los lisosomas⁽²⁷⁾.

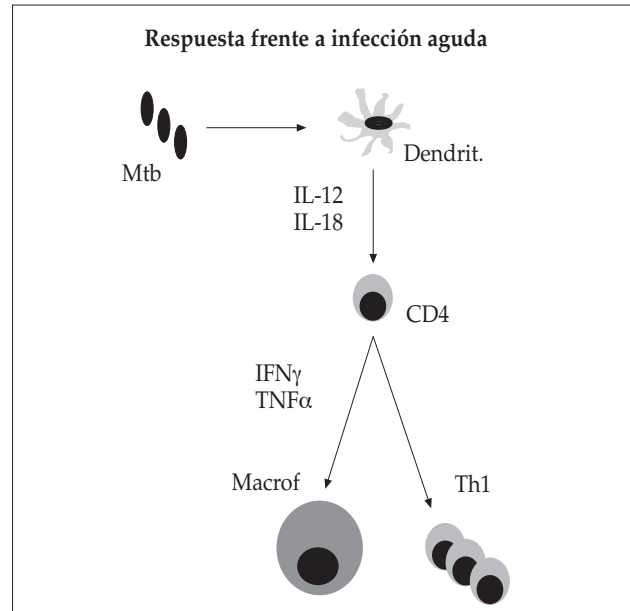


Figura 5. La infección por micobacterias probablemente a través de los receptores TLR2 activa cels. dendríticas y cels. presentadoras de antígeno que liberan citoquinas Th1 (IL-12 e IL-18) activadoras de linfocitos CD4+ que, a su vez, activarán otras células, incluidas las propias CD4+, que son fundamentales para la defensa contra la tuberculosis en fase aguda. En la fase crónica aumentará el protagonismo de las cels. CD8+.

Fase crónica. A lo largo de la evolución adquieren mayor importancia las células. CD8+^(27,32), posiblemente por la propia capacidad citotóxica que poseen, pero también por la síntesis de IFN γ . Precisamente se piensa que la falta de eficacia de la BCG está determinada en gran parte por su pobre capacidad para activar células CD8+⁽³⁰⁾. Se afirmó que la subpoblación de linfocitos T con receptor TCR tipo γ/δ pudiera ser relevante en la defensa de la tuberculosis, en especial una subpoblación que presenta cadenas $\gamma 9$ y $\delta 2$. Son células que aumentan cuando la defensa es eficaz y que además se estima que mantienen memoria inmunológica (Tabla IV)⁽¹⁴⁾.

Una pobre expresión de moléculas HLA-II, necesarias para activar células CD4+, supondría una limitación en la fase aguda de la tuberculosis, mientras que si el fallo es exclusivo de las moléculas HLA-I, necesarias para la citotoxicidad dependiente de linfocitos CD8+, las dificultades serán más acusadas en la fase crónica⁽²⁷⁾. La mala respuesta a la tuberculosis en la fase aguda se acompaña con frecuencia de un acúmulo de células Th2 con disminución de la síntesis de IFN γ ^(7,32).

TABLA IV. RESUMEN DE LA RESPUESTA INMUNITARIA CONTRA LA TUBERCULOSIS

• Linf. CD4+ (Th1: IL-12, IFN γ)	Fundamental en fase aguda
• Linf. CD8+ (citotoxicidad, apoptosis)	Complementaria, necesaria en la fase crónica
• Cel. fagocitarias (presentación ag.; iNOS)	Secundaria, pero importante
• Linf. TCR γ/δ	Relevancia discutida, ¿memoria?
• Memoria inmunológica	Valoración incierta

HIPERSENSIBILIDAD CUTÁNEA Y PROTECCIÓN TUBERCULOSA

Protección

La infección tuberculosa provoca una hipersensibilidad celular bastante duradera, pero es bien conocido que no hay correlación entre el grado de hipersensibilidad cutánea y la protección contra la tuberculosis. Sin embargo, son dos procesos que comparten antígenos y mecanismos, y sería muy útil identificar con exactitud alguna molécula que refleje el grado de protección⁽²⁷⁾. Los niveles de IFN γ tienen más relación con la protección contra la tuberculosis que la hipersensibilidad retardada⁽³³⁾. En animales se comprobó una relación entre el grado de protección y los niveles de IFN γ sin embargo la relación más estrecha no ocurre con las tasas absolutas alcanzadas tras la vacunación, sino con la diferencia pre-vacunal y post-vacunal⁽³³⁾. Es interesante porque indicaría que si hay un aumento previo de IFN γ , p. ej., por infección por micobacterias atípicas, la protección sería más baja.

Prueba de tuberculina

La determinación de la hipersensibilidad mediante una prueba retardada cutánea es útil para el diagnóstico de infección, al menos en niños. Históricamente se emplearon diferentes preparados, pero la prueba se ha homogeneizado usando proteínas purificadas (PPD-RT23 en Europa y PPD-S en América). Hay muchas causas que interfieren el resultado, en sentidos negativo y positivo⁽³⁴⁾, pero son bien conocidas por los pediatras y no las repetiremos aquí, salvo las relacionadas con la vacunación. A pesar de su purificación, la PPD comparte antígenos con micobacterias atípicas y con la BCG, ofreciendo resultado positivo en los vacunados, lo que limita su valor diagnóstico.

Recientemente se comunicaron buenos resultados diagnóstico sustituyendo la PPD por moléculas ESAT-6 y CFP10 (QFT-RD1) que están presentes en el Mtb, pero no en la BCG. Por ahora, el resultado se valora en el laboratorio, con una modificación del ELISA (ELISPOT), lo que es aceptable en algunos medios, pero claramente dificultoso para ciertas áreas geográficas⁽³⁵⁾. Su sensibilidad se mostró superior a la del frotis de esputo y el cultivo⁽³⁶⁾.

Otra sistemática diagnóstica ensayada para valorar la hipersensibilidad celular, que es de tipo Th1, consiste en medir los niveles séricos de INF γ , que persisten elevados durante toda la infección⁽³⁵⁾. No obstante, aún se conoce mal la dinámica, la persistencia, los niveles normales de IFN γ y, en especial, las posibilidades y consecuencias de una falta de respuesta inmune ("falsos negativos"). En animales se investigó la respuesta a la infección y a la vacunación mediante determinación de los linfocitos γ/δ , por citometría de flujo, con resultados interesantes⁽³⁷⁾.

NUEVAS VACUNAS CONTRA LA TUBERCULOSIS

Desde que la OMS en 1993 declaró la tuberculosis como una emergencia mundial, las publicaciones sobre nuevas vacunas de tuberculosis han experimentado un aumento exponencial y se dispone de revisiones actualizadas^(7,30,32,38,39).

Objetivos

El objetivo de las nuevas vacunas es conseguir una protección más duradera y un mayor porcentaje de eficacia. Estas características deben alcanzarse sin perder otras que la BCG posee, de seguridad, bajo coste, aplicabilidad a cualquier población o compatibilidad con el resto del calendario vacunal (Tabla V). Para cualquier infección, el patrón de una vacuna es la infección natural y se intenta buscar una respuesta lo más similar posible. Esto no es suficiente en la tuberculosis pues los enfermos pueden reactivarse o reinfectarse. Por consiguiente, la vacuna a conseguir debe superar a la propia tuberculosis y, además, sin causar lesión, algo realmente difícil^(40,41).

Población a proteger

La información recogida de ensayos clínicos y de experimentación inmunitaria ha diseñado dos poblaciones a pro-

TABLA V. REQUERIMIENTOS A EXIGIR PARA UNA NUEVA VACUNA CONTRA LA TUBERCULOSIS

- Ser segura, estable y económica
- Proteger de la infección y de la enfermedad
- Requerir una dosis única
- Tener una memoria inmunitaria duradera
- Poder combinarse con otras vacunas
- No interferir con la prueba diagnóstica de tuberculina
- Ser eficaz universalmente

De Andersen y col. Trends Immunol 2001.

teger que parece que van a necesitar estrategias vacunales distintas y seguramente también diferentes preparados (Tabla VI).

- Población no infectada.** Estaría formada por individuos que hasta ese momento no han tenido ningún contacto con *Mtb* y quizás tampoco con micobacterias atípicas. Estaría compuesto preferentemente de recién nacidos y lactantes con un sistema inmunitario virgen.
- Población infectada.** Este grupo lo formarían mayoritariamente las personas con formas latentes de tuberculosis, que se calcula son más del 90% de los infectados. En ellas, se ha comprobado que el *Mtb* consigue modificar la respuesta inmunitaria y, además, aparecen nuevos antígenos tuberculosos que no estaban expresados por el bacilo infectante.

Un subgrupo especial estaría formado por los propios enfermos tuberculosos. Hasta ahora no se contempla en ellos la administración de vacunas pero no se descarta para un futuro próximo su administración en forma de inmunoterapia coadyuvante simultánea a la terapia anti-tuberculosa.

Preparados vacunales

El número de nuevas vacunas investigadas contra la tuberculosis supera los 200 (Tabla VII)⁽³⁹⁾. En resumen, las nuevas vacunas corresponden a: preparados reforzados de BCG, vacunas de *Mtb* mutante, de subunidades, de ADN o de moléculas de fusión^(36,38). El riesgo de los preparados con microorganismos vivos y la dificultad para comparar los resultados ha obligado a proponer consensos para comparar los resultados y fijar las condiciones de seguridad, recomendándose que al menos contenga 2 mutaciones no reversibles⁽⁴²⁾ (Fig. 6).

TABLA VI. POSIBLES MOMENTOS DE INTERVENCIÓN PARA LAS NUEVAS VACUNAS CONTRA LA TUBERCULOSIS

Intervención profiláctica

- Pre-exposición (sano/no infectado)
- Post-exposición (¿infección superada?)

Intervención terapéutica

- Tuberculosis latente (infección asintomática)
- Enfermo (inmunoterapia coadyuvante)

Vacunas BCG reforzadas

La mayoría de los intentos partieron de la antigua BCG, intentando mejorarla, aunque también se hayan fabricado vacunas a partir de *M. bovis* mutante^(38,43).

rBCG30. Esta vacuna de BCG, desarrollada por Horwitz y col.^(44,45) está reforzada con la inclusión de un gen que provoca la sobre-expresión de Ag85B, proteína de 30kDa que está presente tanto en la BCG como en el *Mtb*⁽⁷⁾. Esta vacuna ya pasó un ensayo de fase I en EE.UU., comprobándose su seguridad (Tabla VIII)⁽²³⁾.

Vacuna rBCG delta-ure-Hly. Es una vacuna BCG recombinante preparada en el Instituto Max Plank de Berlín⁽⁴⁶⁾, en la que se delecionó el gen de la ureasa y se introdujo un gen de la *Listeria monocytogenes* que expresa la listeriolisina (Fig. 7). Estos cambios ocasionan modificaciones del pH y de la pared de los lisosomas de las células que fagocitan los bacilos de BCG, facilitando su salida al citosol. Esta circunstancia, que no ocurre en la BCG clásica, provoca una presentación por moléculas HLA-II y también HLA-I, y con ello la activación de cels. CD4+ y también CD8+ citotóxicas. Esta vacuna también acelera la apoptosis de las células que fagocitan el bacilo vacunal^(47,48). El inicio de un ensayo de fase I está previsto para el año 2006⁽⁷⁾.

rBCG::RD1. Es una vacuna recombinante desarrollada en el Instituto Pasteur con la introducción del segmento genético RD1, perdido a principios del s. XX, que incluye los genes codificantes de las proteínas ESAT-6 y Ag85A, así como otros muy importantes que ocasionan su expresión y liberación⁽²⁷⁾.

Otras vacunas atenuadas

Vacunas mutantes a partir de *Mtb*. Aunque la mayoría de las vacunas con bacilos vivos investigadas están basadas en la conocida y segura BCG, hay otras fabricadas a partir

TABLA VII. PRINCIPALES ANTÍGENOS DE VACUNAS DE TUBERCULOSIS ENSAYADAS EN ANIMALES, Y QUE SON RECONOCIDOS POR LINFOCITOS T HUMANOS

Antígeno	Identificación Sanger	Función	Presente en filtrado de cultivos
ESAT-6*	Rv3875	Desconocida	+
Ag85A	Rv3804C	Unión a fibronectina	+
Ag85B	Rv1886c	Micolyl transferasa. Unión a fibronectina	+
MTP51	Rv3803c	Hidrolasa alfa/beta	+
MTP64	Rv1980c	Desconocida	+
CFP10*	Rv3874	Desconocida	+
TB10.3*	Rv3019c	Desconocida	+
TB10.4*	Rv0288	Desconocida	+
Mtb8.4	Rv1174c	Desconocida	+
hspX	Rv2031c	Chaperonina	-
CFP6	Rv3004	Desconocida	+
Mtb12	Rv2376c	Desconocida	+
Mtb9.9*	Rv1793 y otros	Desconocida	+
Mtb32.A	Rv0125	Serina proteasa	+
PstS-1	Rv0934	Proteína transportadora de fosfato	+
PstS-2	Rv0932c	Proteína transportadora de fosfato	+
PstS-3	Rv0928	Proteína transportadora de fosfato	+
MPT63	Rv1926c	Desconocida	+
Mtb39	Rv1196	Desconocida	-
Mtb41	Rv0915c	Desconocida	-
MPT83	Rv2873	Proteína de superficie. Desconocida	-
71-kDa	?	Proteína de superficie. Desconocida	-
PPE68	Rv3873	Proteína de superficie. Desconocida	-
LppX	Rv3878 y otros	Desconocida	+

Andersen. *Nat Rev Microbiol* 2005.

*Proteínas incluídas en la familia ESAT.

ESAT: early-secreted antigen for T cells; MPT: proteína procedente de *M. tuberculosis*; MPB: proteína procedente de *M. bovis*; CFP: proteínas de filtrado de cultivos; Mtb: *Mycobacterium tuberculosis*; hsp: heat shock protein.

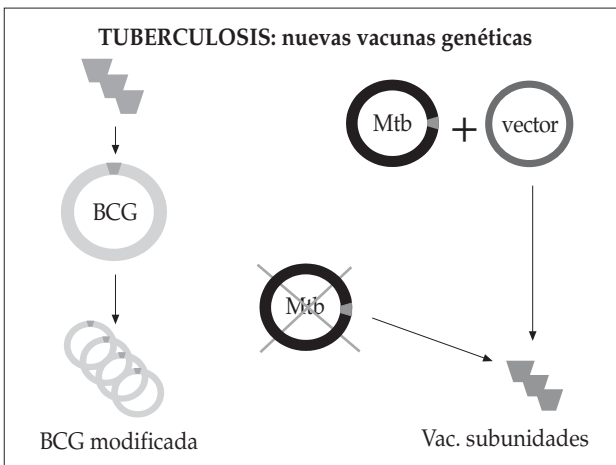


Figura 6. Las técnicas genéticas se están aplicando a las nuevas vacunas. Por una parte se introducen genes ausentes en la clásica BCG. Además, se recombina el genoma de *M. tuberculosis* con vectores para conseguir la síntesis de moléculas antigénicas, que también se pueden conseguir por técnicas moleculares no genéticas.

de Mtb mutantes^(43,49). Algunas de ellas son la PhoP, desarrollada en el Instituto Pasteur, y otra en el Albert Einstein College, de Nueva York⁽⁷⁾. Estudios preliminares realizados en Méjico con FadD26 mostraron una buena protección en animales, aunque todavía no se comprobó su seguridad en humanos⁽⁵⁰⁾.

Vacunas atenuadas de micobacterias atípicas. Entre las diferentes vacunas experimentadas, se han probado vacunas con micobacterias atípicas de baja patogenicidad que comparten alta antigenicidad con el Mtb, como son la *M. microti*, *M. vaccae* o la *M. smegmatis*⁽⁷⁾, pero hay poca información sobre los resultados.

Vacunas de subunidades

En animales, usando algunas vacunas de subunidades se consiguió una respuesta inmunológica similar a la presentada con vacunas BCG de microorganismos vivos⁽⁵¹⁾.

TABLA VIII. EJEMPLOS DE NUEVAS VACUNACIONES CONTRA LA TUBERCULOSIS

Vacunas reforzadas de BCG
• Dosis de recuerdo (<i>booster</i>)
• Asociar genes
- Ag 85b
- Listeriolisina (<i>L. monocytogenes</i>)
Vacunas de <i>M. tuberculosis</i> mutante
Vacunas de subunidades
• Mtb 72F (Mtb32+Mtb39)
• MVA 85 ^a

TABLA IX. ALGUNAS DE LAS VACUNAS DE TUBERCULOSIS EN ENSAYOS PRECLÍNICOS

Antígeno	Tipo	Fuente
MVA-Ag85	Antígeno primario	Universidad de Oxford
rBCG30	BCG recombinante	UCLA
Mtb72F	Proteínas fusionadas	Glaxo SmithKline
Ag85/ESAT	Proteínas fusionadas	Copenhague
ESAT/Ag85	Proteínas fusionadas	FDA/CBER

De Orme I, 2005.

MVA: virus modificado de *Vaccinia Ankara*; rBCG: bacilo de *Calmette-Guerin* recombinante.

Incluso hay buenos resultados utilizando bacilos muertos enteros⁽³⁹⁾, en ambos casos el éxito dependió del coadyuvante. Según opinión cada vez más generalizada, la elección de un adyuvante adecuado, fuerte estimulante Th1, puede ser más decisivo que la elección de la propia subunidad específica^(39,51).

M. tuberculosis 72F. Es una nueva proteína producto de la fusión de la Mtb32.A (Rv0125) y de la Mtb39 (Rv1196) que está incluida en una emulsión de aceite y agua y contiene como adyuvante, a un lipopolisacárido. Está preparada por GSK y Corixa y ya ha pasado un ensayo clínico de fase I⁽⁵²⁾.

Fusión ESAT-6 + Ag85B. La proteína resultantes de esta fusión se está investigando en diferentes formulaciones. Para el uso parenteral (ID o IM) se prepara con un adyuvante complejo estimulante de la respuesta Th1 que incluye aminoácidos policationicos y oligonucleótidos. Para su utilización intranasal se acompaña de una enterotoxina sensible al calor⁽⁵³⁾. Estaba previsto que Chiron comenzase un ensayo de fase I con estas vacunas a finales del 2005⁽²³⁾ y ya se ha

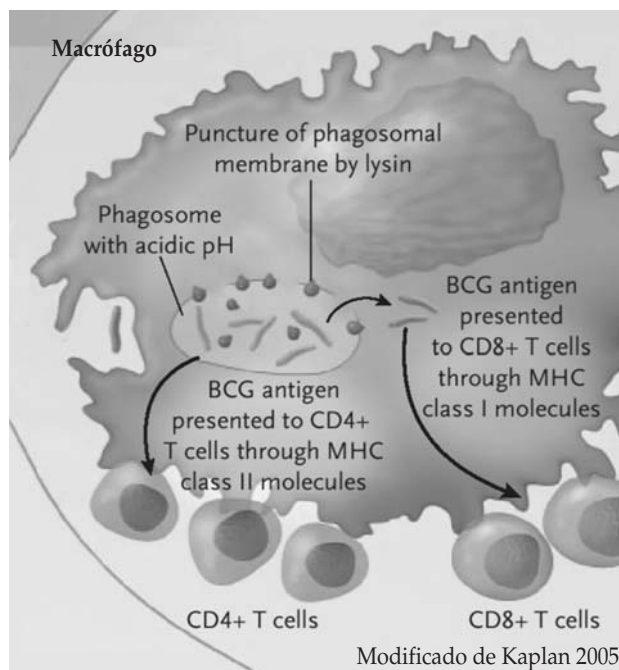


Figura 7. Una de las nuevas vacunas más adelantada es la rBCG delta-ure-Hly, denominada así porque se deletionó del gen de la ureasa y se introdujo un gen de la *Lysteria monocytogenes* que codifica la listeriolisina. Estos cambios alteran la pared de los lisosomas, permitiendo que los bacilos vacunales salgan al citosol y puedan ser presentados por moléculas HLA-I a los linfocitos citotóxicos CD8+. La BCG clásica solo es presentada por moléculas HLA-II a linf. CD4+.

probado en monos a los que protege, inhibiendo la producción de PCR y la activación de cels. CD4+ y CD8+⁽⁵⁴⁾.

Vaccinia Ankara modificada (MVA). Es un virus de *Vaccinia* replicado que se ha modificado con el objeto de que exprese el Ag85A. Ha pasado ensayos de fase I, comprobándose su inmunogenicidad y seguridad en humanos⁽²³⁾.

Otras moléculas. Recientemente, Hogart⁽⁵⁵⁾ ensayó en terneras la molécula TB10.3 (Rv3019c), que pertenece al grupo ESAT-6. La respuesta fue superior a la desencadenada por otras 5 moléculas candidatas, entre ellas la HSP70 y la PstS1, consiguiendo una producción de IFN γ y una estimulación blástica de los linfocitos similar a la ocasionada por BCG. Otra propuesta es emplear molécula TB10.4 fusionada a Ag85B, en lugar de la más conocida ESAT-6. La razón es que proporciona similar antigenicidad y que, al contrario que la ESAT-6, no interfiere el diagnóstico al no estar contenida en preparados similares a la PPD⁽⁵⁶⁾.

TABLA X. SITUACIÓN DE LAS VACUNACIONES POST-INFECCIÓN

Tuberculosis latente
• No hay modelos animales
• Nuevos antígenos en el bacilo latente
• Se conocen mal los mecanismos de reactivación
Enfermos con farmacoterapia
• Inmunoterapia con <i>M. vaccae</i> , otras
• ¿Riesgo de fenómeno "tipo Koch"?

En la respuesta contra estas moléculas parece ser fundamental el adyuvante elegido. Por otra parte, la respuesta es incompleta cuando se usa el DNA en lugar de la correspondiente proteína^(39,51,57).

Según algunos especialistas, la elección de la molécula idónea para sustituir la BCG no ha hecho más que empezar y a la elección de una proteína le seguirán las moléculas de fusión y los cócteles de proteínas⁽¹³⁾. De momento no parece que las moléculas puedan sustituir a las vacunas con microorganismos vivos, aunque algunos preparados se acercan en eficacia. Quizás su papel pueda ser complementario, como recuerdo (*booster*) o en infecciones latentes.

ESTRATEGIAS VACUNALES

Profilaxis pre-exposición

Para conseguir una buena y duradera protección contra la tuberculosis hacen falta buenos preparados vacunales, pero también buscar nuevas estrategias que superen la actual primovacuna aislada⁽⁵⁸⁾.

Recuerdo con BCG. La eficacia de la actual BCG es limitada en el tiempo, por ello una actuación lógica y en consonancia con otras vacunaciones fue intentar un efecto *booster* mediante revacunaciones⁽⁵⁹⁾. Aunque hay países donde se revacuna de BCG como medida protectora selectiva a niños de 7-14 años, recientes estudios en Brasil y más antiguos en África demostraron que este proceder no añade protección contra la tuberculosis y no debe ser recomendada⁽⁶⁰⁾, aunque pudiera ser útil para la lepra⁽⁶¹⁾.

La vacunación múltiple con BCG en cobayas no aumenta la protección, y además elimina la ya conseguida en la primo-vacunación⁽⁶²⁾. En cualquier caso, siempre se tendrá presente que, tanto la respuesta inmunitaria, como la infec-

ción tuberculosa, son muy diferentes en los roedores y en el hombre⁽⁶³⁾, por eso las vacunas se han probado recientemente en modelos de infección con monos *cynomolgus*, como un paso previo a ser realizado en el hombre^(54,63).

Recuerdo con vacunas de subunidades

Utilizar vacunas de subunidades para el recuerdo inmunitario es un sistema sin riesgo. La cuestión es elegir la molécula idónea entre las más de 4.000 existentes⁽⁵⁹⁾, que debe corresponder a un antígeno presente en la BCG de la primovacuna, con fuerte inmunogenicidad y para el que haya persistido memoria inmunológica. Horwitz y col.⁽⁴⁴⁾ han conseguido en animales una buena respuesta *booster* con una molécula de 30 kDa, lo que parece esperanzador para su ensayo en humanos.

Vacunación en tuberculosis latente

Hasta ahora la profilaxis de la tuberculosis se dirigió masivamente a la profilaxis primaria de individuos "vírgenes" frente al Mtb, preferentemente recién nacidos para asegurar que tampoco habían tenido contacto con micobacterias atípicas. Sin embargo, 2/3 de la población mundial está ya infectada, son un riesgo de contagio y diseminación, por lo que parece obligado intervenir también sobre ellos. Esta población incluye formas latentes que hay que impedir que se reactiven y enfermos en los que la vacunación actuaría como inmunoterapia coadyuvante⁽⁶⁴⁾. Además, al no existir inmunidad natural absoluta, todos pueden experimentar reinfecciones.

El abordaje de la tuberculosis latente tiene muchos problemas que están lejos de su resolución. De entrada las vacunas que son efectivas para situaciones pre-exposición no lo son en los animales ya infectados⁽⁶⁵⁾. Hay riesgo de producción de fenómeno "Koch-like"^(63,64) (Tabla X). No se dispone de modelos animales para la tuberculosis latente, se conoce muy mal la biología del Mtb latente y aún menos de los mecanismos de la reactivación⁽³⁰⁾. En la reactivación influyen preferentemente señales recibidas de cercanos bacilos activos, por lo que siempre será fundamental hacer una esterilización lo más completa posible⁽³⁰⁾. Además, es probable que otros gérmenes co-infectantes o estimulaciones antigénicas no infecciosas también puedan participar en el despertar de las Mtb latentes^(63,64).

Se han buscado proteínas que las Mtb no dejen nunca de eliminar, ni siquiera en la fase durmiente, para ser usa-

das en vacunas. Entre ellas se reconoció y empleó la HspX (cristalina alfa) pero los resultados fueron poco concluyentes, pareciendo más prometedores los obtenidos vacunando con Mtb72⁽³⁰⁾.

Vacunación en enfermos tuberculosos

En los enfermos tuberculosos se ensayaron algunas vacunas, como una preparada con *M. vaccae*, que resultó segura, sin producir fenómenos de "tipo-Koch", pero que tampoco rebajó la eliminación de bacilos en el esputo⁽⁵⁹⁾.

Vías de administración alternativas

Finalmente, un aspecto complementario, pero no secundario, es la vía de administración. La vacunación oral o nasal, que es la vía habitual de la infección tuberculosa natural, está consiguiendo en roedores mejores resultados experimentales que la aplicación parenteral del mismo preparado⁽³⁹⁾, aunque todavía no hay mucha información en humanos.

INFECCIÓN POR MICOBACTERIAS Y ALERGIA

La alergia mediada por IgE está facilitada por un mecanismo Th2 y se supone que protegida por una activación Th1, como la que sucede en la tuberculosis. Este planteamiento llevó a pensar que la infección latente por Mtb o la vacunación con BCG pudiera ser un factor de protección y, en consonancia con ello, se pensó que el aumento de la alergia en determinados países podría estar en parte relacionado con la falta de estímulos antigénicos por micobacterias^(66,67). En España se compararon 6.762 niños de 6-7 años vacunados de BCG al nacimiento, procedentes del País Vasco y Asturias, con otros 2.828 no vacunados recogidos en La Coruña, con circunstancias de edad y ambiente similares⁽⁶⁸⁾. La BCG mostró una débil, pero significativa, protección contra el asma (OR: 0,87; CI 95% 0,76-1,00), la fiebre del heno (OR: 0,87; CI 95% 0,75-1,01) y la dermatitis atópica (OR: 0,89; CI 95% 0,76-1,05)⁽⁶⁸⁾. Aunque la controversia continúa porque se mezclan demasiadas variantes, en los últimos años se han multiplicado los trabajos sugiriendo que la BCG y la infección por micobacterias poseen un efecto protector sobre la alergia⁽⁶⁹⁻⁷³⁾.

En sentido inverso, también se especula con la posibilidad de que una desproporcionada reacción Th2, mediada

por IL-4, tenga un efecto deletéreo sobre la infección tuberculosa. Esto explicaría por qué en países con alta parasitosis la BCG tiene menos eficacia y la infección tuberculosa es más común⁽⁷⁴⁾. Diferentes estudios en tuberculosis bovina y murina han asociado una mala evolución, mortal o hacia la fibrosis pulmonar, con el aumento de IL-4⁽⁷⁵⁾. Así se ha visto que el TNF α , que es un factor crucial en la defensa tuberculosa, se convierte en un elemento tóxico cuando está presente la IL-4 además, esta IL-4 deprime la activación de importantes factores de la respuesta inmune frente a la tuberculosis, como el iNOS, el receptor TLR-2 y la activación de los macrófagos⁽⁷⁵⁾.

En la elección de nuevas vacunas contra la tuberculosis se ha prestado una atención prácticamente exclusiva a su capacidad para estimular la inmunidad Th-1, con resultados variables. Rook y col.⁽⁷⁵⁾ acaban de proponer que la cuestión básica no radica en la composición de las nuevas vacunas, sino en la erradicación previa de una posible elevada actividad Th-2 y animan a que se sean estudiados estos aspectos. Esta teoría podría implicar una peor respuesta a vacunas e infección natural en las personas atópicas. También abriría puertas a nuevos sistemas de inmunoterapia coadyuvante en los enfermos. Son aspectos de gran interés pero con mucha dificultad para el estudio epidemiológico y que hasta ahora merecieron la atención desde la vertiente alergológica, más que de la repercusión infecciosa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Balboa de Paz F, Pérez Rodríguez O, Barbosa Gomes E, Rueda Esteban S. Estado actual de la tuberculosis. *Acta Pediatr Esp* 2005; **63**: 406-12.
2. Soza G, Miranda C, Bernaola E. Vacuna de Tuberculosis. En: Manual de vacunas en Pediatría. Madrid: AEP; 2005. p. 385-403.
3. Kaufmann SH, Cole ST, Mizrahi V, Rubin E, Nathan C. Mycobacterium tuberculosis and the host response. *J Exp Med* 2005; **201**: 1693-7.
4. Barnes PF, Cave D. Molecular epidemiology of tuberculosis. *N Engl J Med* 2003; **349**: 1149-56.
5. Mandalakas AM, Starke JR. Current concepts of childhood tuberculosis. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005; **16**: 93-104.
6. Singh M, Mynak ML, Kumar L, Mathew JL, Jindal SK. Prevalence and risk factors for transmission of infection among children in household contact with adults having pulmonary tuberculosis. *Arch Dis Child* 2005; **90**: 624-8.

7. Girard MP, Frith U, Kieny M-P. A review of vaccine research and development: Tuberculosis. *Vaccine* 2005; **23**: 5725-31.
8. Tipayamongkholgul M, Podhipak A, Chearskul S, Sunakorn P. Factors associated with the development of tuberculosis in BCG immunized children. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; **36**: 145-50.
9. Ausina Ruiz VA. Tuberculosis. En: Farreras Rozman. Medicina Interna. 13ª ed. Barcelona: Doyma; 1996. p. 2357-66.
10. Buu N, Sánchez F, Schurr E. The BCG host-resistance gene. *J Infect Dis* 2000; **31** (supl 3): S81-S85.
11. Blanco Quirós A. Recuerdo histórico de las vacunas. En: Manual de vacunas en Pediatría. Madrid: AEP; 2005. p. 41-54.
12. Behr MA, Wilson MA, Gill WP, Salamon H, Schoolnik GK, Rane S, Small PM. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science* 1999; **284**: 1520-3.
13. Andersen P, Doherty TM. TB subunit vaccines-putting the pieces together. *Microbes Infect* 2005; **7**: 911-21.
14. Alcaide J, Altet MN, Salleras L. Vacuna BCG. En: Salleras L. Vacunaciones preventivas. Barcelona: Masson; 2003. p. 529-74.
15. Deeks SL, Clark M, Scheifele DW, Law BJ, Dawar M, Ahmadipour N, Walop W, Ellis CE, King A. Serious adverse events associated with bacille Calmette-Guerin vaccine in Canada. *Pediatr Infect Dis J* 2005; **24**: 538-41.
16. Committee of Infectious Disease of American Academy of Pediatrics. Tuberculosis. En: Red Book. 26 ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2003. p. 646-60.
17. Rodrigues LC, Diwan VK, Wheeler JG. Protective effect of BCG against tuberculosis meningitis and miliary tuberculosis: a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 1993; **22**: 1154-8.
18. Soysal A, Millington KA, Bakir M, Dosanjh D, Aslan Y, Deeks JJ, et al. Effect of BCG vaccination on risk of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children with household tuberculosis contact: a prospective community-based study. *Lancet* 2005; **366**: 1443-51.
19. Fine PEM. Variation in protection by BCG: Implications of and for heterologous immunity. *Lancet* 1995; **346**: 1339-45.
20. Demangel C, Garnier T, Rosenkrands I, Cole ST. Differential effects of prior exposure to environmental mycobacteria on vaccination with *Mycobacterium bovis* BCG or a recombinant BCG strain expressing RD1 antigens. *Infect Immun* 2005; **73**: 2190-6.
21. Rook GA, Dheda K, Zumla A. Do successful tuberculosis vaccines need to be immunoregulatory rather than merely Th1-boosting? *Vaccine* 2005; **23**: 2115-20.
22. Aronson NEM, Santosham GW, Comstock RS, Howard LH, Moulton LH, Rhoades ER, Harrison LH. Long-term efficacy of BCG vaccine in american indians and Alaska natives. A 60 year follow-up study. *JAMA* 2004; **291**: 2086-91.
23. Kaufmann SHE. Recent findings in immunology give tuberculosis vaccines a new boost. *Trends Immunol* 2005; **26**: 660-7.
24. Casanova JL, Jouanguy E. Immunological conditions of children with BCG disseminated infection. *Lancet* 1995; **346**: 581 (letter).
25. Casanova JL, Blanche S, Emile JF, et al. Infección idiopática diseminada por el bacilo de Calmette-Guerin: estudio nacional francés de naturaleza retrospectiva. *Pediatrics* (ed. esp.) 1996; **42**: 263-268.
26. Holland SM, Rosenzweig SD. Interferon- γ /IL-12 pathway deficiencias. En, Stiehm, Ochs, Winkelstein, Immunologic disorders in infants and children. 5ª ed. Filadelfia: Elsevier; 2004. p. 553-6.
27. Doherty TM, Andersen P. Vaccines for tuberculosis: Novel concepts and recent progress. *CI Microbiol Rev* 2005; **18**: 687-702.
28. Cardona PJ, Ausina V. Hipersensibilidad retardada y necrosis caseosa en el granuloma tuberculoso. Nuevas ideas para el diseño de una nueva vacuna contra la tuberculosis humana. *Med Clín* 2000; **115**: 503-9.
29. Blanco Quirós A. Fisiología y desarrollo de la inmunidad. En: Cruz M., ed. Tratado de Pediatría. 9ª ed. Madrid: Ergon; 2006 (en prensa).
30. Orme IM. Preclinical testing of new vaccines for tuberculosis: a comprehensive review. *Vaccine* 2006; **24**: 2-19.
31. Maini R, St. Clair EW, Breedveld F, Furst D, Kalden D, Weisman M, et al. Infliximab (chimeric anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomised phase III trial. *Lancet* 1999; **354**: 1932-9.
32. Andersen P. TB vaccines: progress and problems. *Trend Immunol* 2001; **22**: 160-8.
33. Black GF, Weir RE, Floyd S, Bliss L, Warndorf DK, Crampin AC, et al. BCG-induced increase in interferon-gamma response to mycobacterial antigens and efficacy of BCG vaccination in Malawi and the UK: two randomised controlled studies. *Lancet* 2002; **359**: 1393-401.
34. Carceller A, Lebel MH. Prevención de la tuberculosis en España en el siglo XXI. *An Pediatr (Barc)* 2005; **62**: 207-9.
35. Lienhardt C, Zumla A. BCG: The story continues. *Lancet* 2005; **366**: 1414-6.
36. Ravn P, Munk ME, Andersen AB, Lundgren B, Lundgren JD, Nielsen LN, et al. Prospective evaluation of a whole-blood test using Mycobacterium tuberculosis-specific antigens ESAT-6 and CFP-10 for diagnosis of active tuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; **12**: 491-6.
37. Olin MR, Hwa Choi K, Lee J, Molitor TW. Gammadelta T-lymphocyte cytotoxic activity against Mycobacterium bovis analyzed by flow cytometry. *J Immunol Methods* 2005; **297**: 1-11.
38. Nasser Eddine A, Kaufmann SH. Improved protection by recombinant BCG. *Microbes Infect* 2005; **7**: 939-46.

39. Haile M, Kallenius G. Recent developments in tuberculosis vaccines. *Curr Opin Infect Dis* 2005; **18**: 211-5.
40. Young DB. Building a better tuberculosis vaccine. *Nat Med* 2003; **9**: 503-4.
41. Martin C. The dream of a vaccine against tuberculosis; new vaccines improving or replacing BCG? *Eur Respir J* 2005; **26**: 162-7.
42. Kamath AT, Fruth U, Brennan MJ, Dobbelaer R, Hubrechts P, Ho MM, et al. AERAS Global TB Vaccine Foundation; WHO. New live mycobacterial vaccines: the Geneva consensus on essential steps towards clinical development. *Vaccine* 2005; **23**: 3753-61.
43. Collins DM, Skou B, White S, Bassett S, Collins L, For R, Hurr K, Hotter G, de Lisle GW. Generation of attenuated Mycobacterium bovis strains by signature-tagged mutagenesis for discovery of novel vaccine candidates. *Infect Immun* 2005; **73**: 2379-86.
44. Horwitz MA, Harth G, Dillon BJ, Maslesa-Galic S. Enhancing the protective efficacy of Mycobacterium bovis BCG vaccination against tuberculosis by boosting with the Mycobacterium tuberculosis major secretory protein. *Infect Immun* 2005; **73**: 4676-83.
45. Horwitz MA, Harth G, Dillon BJ, Maslesa-Galic S. Recombinant bacillus Calmette-Guerin (BCG) vaccines expressing the Mycobacterium tuberculosis 30-kDa major secretory protein induce greater protective immunity against tuberculosis than conventional BCG vaccines in a highly susceptible animal model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**: 13853-8.
46. Hess J, Miko D, Catic A, Lehmensick V, Russell DG, Kaufmann SH. Mycobacterium bovis Bacille Calmette-Guerin strains secreting listeriolysin of Listeria monocytogenes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 5299-304.
47. Grode L, Seiler P, Baumann S, Hess J, Brinkmann V, Eddine AN, et al. Increased vaccine efficacy against tuberculosis of recombinant Mycobacterium bovis bacille Calmette-Guerin mutants that secrete listeriolysin. *J Clin Invest* 2005; **115**: 2472-9.
48. Kaplan G. Rational vaccine development-A new trend in tuberculosis control. *N Engl J Med* 2005; **353**: 1624-5.
49. Sambandamurthy VK, Jacobs WR Jr. Live attenuated mutants of Mycobacterium tuberculosis as candidate vaccines against tuberculosis. *Microbes Infect* 2005; **7**: 955-61.
50. Infante E, Aguilar LD, Gicquel B, Pando RH. Immunogenicity and protective efficacy of the Mycobacterium tuberculosis fadD26 mutant. *Clin Exp Immunol* 2005; **141**: 21-8.
51. Reed S, Lobet Y. Tuberculosis vaccine development; from mouse to man. *Microbes Infect* 2005; **7**: 922-31.
52. Skeiky YA, Alderson MR, Ovendale PJ, et al. Differential immune response and protective efficacy induced by components of a tuberculosis polyprotein vaccine, Mtb72F, delivered as naked DNA or recombinant protein. *J Immunol* 2004; **172**: 7618-28.
53. Olsen AW, et al. Protection of mice with a tuberculosis subunit vaccine based on a fusion protein of antigen 85B and ESAT-6. *Infect Immun* 2001; **69**: 2773-8.
54. Langermans JA, Doherty TM, Ververne RA, Van der Laan T, Lyashchenko K, Greenwald R, et al. Protection of macaques against Mycobacterium tuberculosis infection by a subunit vaccine based on a fusion protein of antigen 85B and ESAT-6. *Vaccine* 2005; **23**: 2740-50.
55. Hogarth PJ, Logan KE, Vordemeier HM, Singh M, Hewinson RG, Chambers MA. Protective immunity against Mycobacterium bovis induced by vaccination with Rv3019c-member of the esat-6 gene family. *Vaccine* 2005; **23**: 2557-64.
56. Dietrich J, Aagaard C, Leah R, Olsen AW, Stryhn A, Doherty TM, Andersen P. Exchanging ESAT6 with TB10.4 in an Ag85B fusion molecule-based tuberculosis subunit vaccine: efficient protection and ESAT6-based sensitive monitoring of vaccine efficacy. *J Immunol* 2005; **174**: 6332-9.
57. Vordermeier HM, Pontarollo R, Karvonen B, Cockle P, Hecker R, Singh M, et al. Synthetic peptide vaccination in cattle: induction of strong cellular immune responses against peptides derived from the Mycobacterium bovis antigen Rv3019c. *Vaccine* 2005; **23**: 4375-84.
58. Andersen P, Doherty TM. The success and failure of BCG - implications for a novel tuberculosis vaccine. *Nat Rev Microbiol* 2005; **3**: 656-62.
59. Young DB, Robertson BD. Immune intervention in tuberculosis. En: SHE Kaufmann. Immunology of infectious disease. Washington: ASM Press; 2002. p. 439-51.
60. Rodrigues LC, Pereira SM, Cunha SS, Ichichara MY, de Brito SC, Hajar MA, et al. Effect of BCG revaccination on incidence of tuberculosis in school-aged children in Brazil: the BCG-REVAC cluster-randomised trial. *Lancet* 2005; **366**: 1290-5.
61. Karonga Prevention Trial Group. Randomised controlled trial of single BCG, repeated BCG, or combined BCG and killed Mycobacterium leprae vaccine for prevention of leprosy and tuberculosis in Malawi. *Lancet* 1996; **348**: 17-23.
62. Basaraba RJ, Izzo AA, Brandt L, Orme IM. Decreased survival of guinea pigs infected with Mycobacterium tuberculosis after multiple BCG vaccinations. *Vaccine* 2006; **24**: 280-6.
63. Orme IM. Safety issues regarding new vaccines for tuberculosis, with an emphasis on post-exposure vaccination. *Tuberculosis* 2006; **86**: 68-73.
64. Orme I. The latent tuberculosis bacillus (I'll let you know if I ever meet one). *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; **5**: 589-93.
65. Turner J, Rhoades ER, Keen M, Belisle JT, Frank AA, Orme IM. Effective preexposure tuberculosis vaccines fail to protect when they are given in an immunotherapeutic mode. *Infect Immun* 2000; **68**: 1706-9.
66. Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorders. *Science* 1997; **275**: 77-9.

67. Suzuki N, et al. Can *Mycobacterium tuberculosis* infection prevent asthma and other allergic disorders. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; **124**: 113-6.
68. García-Marcos L, Morales M, Miner I, Batllés J, Blanco-Quirós A, López-Silvarrey A, et al. BCG immunization at birth and atopic diseases in a homogeneous population of Spanish schoolchildren. *Int Arch Allergy Immunol* 2005; **137**: 303-9.
69. Choi IS, Koh YI. Therapeutic effects of BCG vaccination in adult asthmatic patients: a randomized, controlled trial. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; **88**: 584-91.
70. Da Cunha SS, Cruz AA, Dourado I, Barreto ML, Ferreira LDA, Rodrigues LC. Lower prevalence of reported asthma in adolescents with symptoms of rhinitis that received neonatal BCG. *Allergy* 2004; **59**: 857-62.
71. Rytönen J, Karttunen TJ, Karttunen R, Valkonen KH, Björkstén B, Kokkonen J. BCG vaccine modulates intestinal and systemic response to beta-lactoglobulin. *Pediatr Allergy Immunol* 2004; **15**: 408-14.
72. Martignon G, Oryszczyn MP, Annesi-Maesano I. Does childhood immunization against infectious diseases protect from the development of atopic disease? *Pediatr Allergy Immunol* 2005; **16**: 193-200.
73. Biet F, Duez C, Kremer L, Marquillies P, Amniai L, Tonnel A-B, Loch C, Pestel J. Recombinant *Mycobacterium bovis* BCG producing IL-18 reduces IL-5 production and bronchoalveolar eosinophilia induced by an allergic reaction. *Allergy* 2005; **60**: 1065-72.
74. Malhotra I, et al. Helminth and bacillus Calmette-Guérin-induced immunity in children sensitized in utero to filariasis and schistosomiasis. *J Immunol* 1999; **162**: 6843-8.
75. Rook GAW, Hernández-Pando R, Dheda K, Seah GT. IL-4 tuberculosis: implications for vaccine design. *Trends Immunol* 2004; **25**: 483-8.