

¿ES SUFICIENTE LA PRUEBA TUBERCULINICA PARA EL DIAGNOSTICO DE LA INFECCION TUBERCULOSA ?

ISABEL N. de KANTOR¹, VIVIANA RITACCO²

¹Panel de Consultores en Tuberculosis, OMS, Buenos Aires; ²CONICET- ANLIS Carlos G. Malbrán, Buenos Aires

Resumen La infección tuberculosa (TB) se determina por la prueba tuberculínica (PTC) con PPD, un extracto de proteínas/péptidos de *Mycobacterium tuberculosis*, algunos compartidos con otras micobacterias como BCG, lo cual origina falsos resultados positivos en vacunados/no infectados. Las nuevas pruebas *ex vivo* miden el interferón γ (IFN- γ) liberado en sangre, o la cantidad de células que lo producen, en presencia de los péptidos ESAT-6 y CFP-10 de *M. tuberculosis*. Como estos antígenos no existirían en BCG, las pruebas IFN- γ diferenciarían infección TB de vacunación. Numerosos estudios han comparado estas pruebas con la PTC con resultados aún no concluyentes. Las pruebas IFN- γ tendrían menor sensibilidad que la PTC, aunque su menor positividad en poblaciones vacunadas podría interpretarse como mayor especificidad. Por otra parte, la vacunación BCG, si no es reciente, no es causa de falsos positivos a la PTC: reacciones ≥ 10 mm o ≥ 15 mm indican infección TB con altísima probabilidad. Donde la incidencia de TB es mediana o alta, la PTC aventaja en costo-eficiencia a las pruebas IFN- γ , siempre que se emplee PPD de calidad garantizada, disponible en todos los centros de salud del país, con aplicación, lectura e interpretación estandarizadas. Como existen en la Argentina problemas de abastecimiento de PPD importado, es preciso producirlo localmente y asegurar su control de calidad. También es necesaria la investigación aplicada al desarrollo de nuevos métodos y la evaluación de su capacidad de predecir la evolución de infección a TB activa, es decir, de identificar las personas que más se beneficiarían con quimioprofilaxis.

Palabras clave: prueba tuberculínica, PPD, pruebas de interferón gamma, infección tuberculosa, *Mycobacterium tuberculosis*

Abstract *Is the tuberculin skin test still suitable to diagnose tuberculosis infection?* Tuberculosis (TB) infection is currently being diagnosed by the tuberculin skin test (TST) with PPD. Some *Mycobacterium tuberculosis* PPD components are present in BCG, which can be the cause of false positive TST results in BCG vaccinated persons. New IFN- γ release assays (IGRAs) are based on the *ex vivo* release of IFN- γ by peripheral blood cells in presence of *M. tuberculosis* antigens ESAT-6 and CFP-10, which should be absent in BCG. These assays consist in either quantifying released IFN- γ or enumerating IFN- γ producing cells. In principle, IGRAs should differentiate true TB infection from vaccination and results of several studies suggest that these assays display lower positivity than TST. Whether the lower positivity could be attributed to higher specificity or to lower sensitivity as compared with PPD is still unclear. BCG vaccination, if not recently applied, cannot be blamed for false positive TST reactions. Strong TST reactions (≥ 10 mm or ≥ 15 mm) are highly correlated with TB infection. In settings where TB continues being a serious health problem, cost-effectiveness evaluations would privilege TST under certain conditions: supply of quality-assured PPD reagent, standardized criteria for TST application, reading and interpretation, and regular availability in health centers countrywide. In view of current limitations in the supply of imported PPD in Argentina, its production/quality assurance should be considered a public health priority. Still, key questions remain to be addressed concerning the role of IGRAs and TST in predicting risk of TB disease, in other words, in identifying persons who will benefit most from chemoprophylaxis.

Key words: tuberculin skin test, PPD, IFN- γ release assays, tuberculosis infection, *Mycobacterium tuberculosis*

El diagnóstico de la infección tuberculosa (o *LTBI: latent tuberculosis infection*) es un tema de investigación de creciente importancia en los países más desarrolla-

dos. En la mayoría de ellos la incidencia de tuberculosis (TB) en sus poblaciones autóctonas está por debajo de 10/100 000 habitantes¹. En tales condiciones la TB podría ser totalmente eliminada, al menos teóricamente, si se esterilizaran las infecciones existentes mediante quimioprofilaxis (QPF), aplicada a quienes estén infectados por *Mycobacterium tuberculosis*, pero no enfermos. También, en varios de esos países se decidió, con base en estudios de costo-beneficio, discontinuar la vacuna-

Recibido: 29-IV-2009

Aceptado: 13-V-2009

Dirección postal: Dra. Isabel N. de Kantor, Av. Libertador 7504, 16 A (1429) Buenos Aires, Argentina.

Tel: (54 11) 4701 2019

e-mail: isabel.kantor@gmail.com

ción BCG o restringir su uso a ciertos grupos de la población (Gran Bretaña, Canadá, Francia, Alemania). En otros, como EE.UU., la vacunación nunca fue parte de los programas de control de la TB²⁻⁶.

Algo más de 2000 millones de personas, un tercio de la población mundial, están infectadas por *M. tuberculosis*. Ellas son el origen de los futuros casos de TB y habitan en las regiones más pobladas del mundo, donde la incidencia anual de TB puede llegar hasta casi 1000 por 100 000 habitantes, como en Sur África. Sólo en China e India en 2007 se produjeron 3.26 millones de nuevos casos¹. En América Latina la incidencia en 2007 fue superior a 100 casos por 100 000 en 5 países: Bolivia, Ecuador, Guyana, Haití (306) y Perú. Pero según las estimaciones de la OMS, Brasil (48/100 000) por su población fue el país que produjo mayor cantidad de casos: 92 102. En ese año Argentina notificó a la OMS 10 683 casos, con una incidencia de 27/ 100 000¹.

En situaciones de alta incidencia, la prioridad de los programas de control es la detección y el tratamiento de los casos de TB pulmonar bacilífera, que son las fuentes de infección, para su negativización bacteriológica y curación. El objetivo es cortar así la cadena de transmisión de la TB. El método diagnóstico más empleado es la microscopía de esputo, por su sencillez, su bajo costo y su capacidad de detectar los casos infecciosos⁷. También se aplica la vacunación BCG para conferir a la población infantil resistencia contra las formas primarias de la TB².

En las regiones del mundo con mayor incidencia se originan las migraciones hacia los países más desarrollados. Los controles de salud para la entrada al país receptor incluyen la prueba tuberculínica cutánea (PTC), que es el método usual que se aplica a inmigrantes para el diagnóstico de la infección TB.

Pero quienes han sido vacunados recientemente con BCG pueden resultar positivos a esta prueba aunque no estén infectados o enfermos de TB. Esto se debe a que *M. bovis* BCG posee antígenos comunes con las especies patógenas del complejo *M. tuberculosis*. Otras posibles causas de falsa positividad son las infecciones por micobacterias ambientales, especialmente pero no exclusivamente, en regiones tropicales húmedas^{8,9}. Esos casos serían los "falsos positivos", erróneamente calificados por la PTC como infectados y sometidos en consecuencia a QPF o a tratamiento. Un método de detección de la infección TB en que la vacunación BCG previa no interfiriera, permitiría discriminar entre vacunados e infectados y aplicar sólo a estos últimos las medidas de protección correspondientes. Además del "falso positivo" también ocurre el "falso negativo" (infectados verdaderos con resultado negativo a la prueba), que está relacionado a TB grave, desnutrición, infecciones virales (sarampión, coqueluche, gripe y especialmente HIV) y que también puede ocurrir en sujetos infectados después de

un tiempo prolongado sin recibir nuevos estímulos antigénicos. En este caso, una segunda PTC después de un mes de la primera confirma si la persona es negativa o positiva (efecto *booster*).

La detección de la infección TB también resulta relevante, en todo el mundo, entre los contactos de casos infecciosos, a fin de protegerlos mediante QPF¹⁰ y como método complementario de otras pruebas para el diagnóstico de casos de TB bacteriológicamente negativos⁷. Un método de mayor especificidad que la PTC, con menos resultados falsos positivos debidos a la vacunación BCG podría resultar sumamente útil.

Sin embargo, el posible método diagnóstico de alta especificidad, también debería tener buena sensibilidad, al menos semejante a la de la PTC, para no aumentar los falsos negativos, ya que el costo de no protegerlos con QPF, o bien de no investigar en ellos la posible enfermedad TB, podría resultar más alto para la salud pública que el de aplicar QPF a los eventuales falsos positivos.

¿Pero, qué es la infección tuberculosa?

Es un proceso que comienza con la inhalación de aerosoles que contienen bacilos tuberculosos, expulsados con la tos por un enfermo de TB pulmonar. Estos bacilos pueden llegar hasta el alvéolo pulmonar, donde son fagocitados por el macrófago alveolar. Si sobreviven, comienzan a reproducirse en forma logarítmica hasta que el macrófago estalla, dejando en libertad la progenie bacilar. Entonces otros macrófagos son atraídos, fagocitan a los bacilos, y así continúa el proceso. Los bacilos pueden diseminarse por vía bronquial a otras partes del pulmón y por vía linfática o circulatoria a otros órganos. A las tres semanas, aproximadamente, en un sujeto inmunocompetente, se desarrolla la inmunidad mediada por células contra el bacilo: ciertos linfocitos (células T antígeno-específicas) rodean y activan a los macrófagos, que incrementan su habilidad para destruir los bacilos que han ingerido. Esta respuesta inmune va acompañada por la aparición de la hipersensibilidad de tipo retardado o "tuberculínica".

Puede suceder que la respuesta del organismo sea insuficiente y que la proliferación bacilar continúe. Los macrófagos repletos de bacilos se auto-destruyen, junto con el tejido circundante. Entonces el centro de esta masa de células denominada granuloma se torna caseoso y necrótico y la lesión puede progresar (TB primaria). Si por el contrario se produce una inmunidad eficaz, los macrófagos activados continúan fagocitando y destruyendo los bacilos en la lesión inicial y la infección queda circunscripta¹¹. Se considera que una de cada diez personas infectadas desarrollará TB primaria. La incidencia es mayor si existen deficiencias inmunitarias por desnu-

trición o infecciones virales, en especial por HIV. Las nueve personas restantes mantienen bacilos, eventualmente viables, en la lesión inicial y también la memoria inmunológica específica para *M. tuberculosis*. Esta condición, infección TB o TB latente (LTBI), que puede durar toda la vida, sólo se manifiesta por la respuesta de los linfocitos T (CD4) ante el antígeno, mediante la liberación de citoquinas, entre las que se destaca el interferón gamma (IFN- γ).

El riesgo de enfermedad en los infectados es particularmente alto en los primeros dos años posteriores a la infección, especialmente en los menores de 5 años y en personas con inmunodepresión. En estos grupos, la detección de la infección adquiere importancia práctica^{11,12}. Después de la infección, pueden transcurrir uno a tres meses hasta que la PTC se torne positiva. Pero, especialmente si la carga bacilar recibida fue grande, el período de incubación de la TB primaria, que incluye meningitis u otras formas diseminadas, puede ser más breve. Por lo tanto, se recomienda que los niños expuestos a un caso de TB que no presenten signos de enfermedad, reciban QPF¹³.

La proporción de la población que se infecta anualmente constituye la incidencia o riesgo anual de infección TB y se puede calcular por pruebas tuberculínicas en una población infantil (por ejemplo: escolares de 6 años)^{10,12}. Es un indicador epidemiológico de la endemia tuberculosa, directamente relacionado a la prevalencia de casos de TB pulmonar bacilífera (fuentes de infección en la comunidad). Así es como la disminución del riesgo anual de infección indica que el problema de la TB está declinando, y su aumento, por el contrario, indica un empeoramiento, tal como el observado en el África Subsahariana por la endemia de HIV. Los resultados de la determinación del riesgo anual de infección TB son menos confiables si los niños han recibido la vacuna BCG, por las posibles respuestas cruzadas (falsos positivos) a la PTC^{10, 12, 14}.

De lo anterior surge que, tanto para prevenir la aparición de la enfermedad en el caso individual, como para conocer cuál es el riesgo en una población, se necesita un método confiable de detección de la infección TB. El aplicado hasta ahora es la PTC por inoculación intradérmica del derivado proteínico purificado (PPD). Si la persona a la que se aplicó está infectada, los linfocitos "con memoria", los monocitos y macrófagos activados son atraídos e infiltran la zona. Se liberan citoquinas (IFN- γ entre ellas) y se produce edema y eritema. La lectura se hace 72 horas después, por medida del diámetro de edema. Una induración de ≥ 10 mm de diámetro se considera positiva¹⁵. Se interpreta como conversión tuberculínica un aumento del diámetro de reacción de ≥ 6 mm entre dos pruebas realizadas con 3 meses o más de diferencia, siempre que la última sea una reacción ≥ 10 mm¹⁵.

Otras formas de detectar la infección TB, desarrolladas recientemente, se basan en la liberación *ex vivo* de IFN- γ por las células mononucleares de la sangre en presencia de los antígenos bacilares, y se denominan pruebas de IFN- γ o IGRA (*interferon gamma release assays*)¹⁶⁻²⁰.

Por otra parte, el diagnóstico de certeza de la TB (infección que ya evolucionó a enfermedad) se realiza por aislamiento de *M. tuberculosis* de muestras provenientes de lesiones. En la TB infantil y en las formas extrapulmonares con baja carga bacilar, el diagnóstico es generalmente indirecto: por exámenes clínicos, de laboratorio, radiológicos, de imágenes, por el antecedente del contacto y por la PTC, ya que en estos casos, además de la escasa cantidad de bacilos, suele resultar difícil acceder al sitio lesional y obtener así muestras para la confirmación bacteriológica^{7, 10, 13}.

La prueba tuberculínica (PTC)

La hipersensibilidad tuberculínica es la respuesta que ejerce el organismo frente al PPD, un conjunto de péptidos y proteínas obtenidos por filtración de cultivos esterilizados de *M. tuberculosis* y posterior precipitación con soluciones de sulfato de amonio o ácido tricloroacético.

Algunos de esos péptidos y proteínas son compartidos por el *M. tuberculosis* con otras especies de micobacterias, especialmente las del complejo *M. tuberculosis*: *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. pinnipedii*, *M. microti* y *M. bovis* BCG, la cepa vacunal. En consecuencia, una reacción positiva al PPD podría deberse también a la infección por alguna de estas micobacterias, de las que las cuatro primeras son patógenas para el hombre. Las diferencias en el nivel de respuesta al PPD según que la infección sea debida a *M. tuberculosis* o a *M. bovis* sólo se pueden apreciar en el análisis de grupos, y no en el caso individual²¹. La infección por *M. africanum*, *M. canettii* o por *M. pinnipedii* en humanos sería sólo excepcional en la Argentina y en general en toda América Latina, pero de existir exigiría decisiones de QPF o tratamientos similares a la infección por *M. tuberculosis* o *M. bovis*. La infección por *M. microti* como causa de respuesta positiva a la PTC es también excepcional. Curiosamente, esta micobacteria fue ensayada en Gran Bretaña como vacuna antituberculosa con resultados muy semejantes al BCG, aunque con mayores complicaciones secundarias²². Se han descrito casos de enfermedad por *M. microti* en pacientes inmunocomprometidos (también los hay por BCG) y sin inmuno compromiso aparente²³.

Casi todo lo que hay que saber sobre el PPD. Un relato histórico

El lote estándar de PPD (PPD-S) fue producido por Florence Seibert en EE.UU. en 1939²⁴, y continúa sir-

viendo de referencia para evaluar la potencia (sensibilidad) de otros lotes²⁵. Estos ensayos se efectúan mediante inoculación intradérmica en cobayos previamente sensibilizados con *M. tuberculosis*, comparando los diámetros de reacción cutánea a diferentes concentraciones del producto en evaluación con respecto al estándar.

En 1958 se produjo en el *Statens Serum Institut* (Copenhague) un lote de PPD (RT23) que por su tamaño (equivalente a 33 000 millones de dosis) estaba destinado a cubrir las necesidades para pruebas tuberculínicas en todo el mundo por muchos años²⁶. La comparación de reacciones al PPD-S y al PPD-RT23 en pacientes tuberculosos, en reclutas del ejército holandés vacunados en su niñez y en escolares recientemente vacunados, permitió establecer la dosis de PPD RT23 a emplear en la prueba, y la relación de potencias entre este lote y el PPD-S. Esta fue 2:1 en niños vacunados con BCG, y 1:1 en sujetos infectados no vacunados. Vale decir que pareció haber una mayor respuesta cruzada con el PPD-RT23 por la vacunación BCG, que con el PPD-S, o dicho en forma más general, el PPD-RT23 tendría menor especificidad. Se decidió con base en estos estudios que 5 UT de PPD-S equivalen a 2 UT de PPD-RT23 con *Tween 80* (estabilizante)²⁷. Para cualquier otro lote de PPD se debe determinar la dosis biológicamente equivalente a uno de estos estándares.

En los EE.UU. dos compañías producen PPD: *Parkdale Pharmaceuticals*, Rochester, Michigan (*Aplisol*) y *Pasteur Mérieux Connaught USA*, Swiftwater, Pa (*Tubersol*). La especificidad de *Aplisol* y de *Tubersol* fue determinada en sujetos con muy bajo riesgo de infección (n = 1189). Fijando 10 mm de reacción como límite entre negativos y positivos, los valores de especificidad fueron 98.1 y 99.1% para *Aplisol* y *Tubersol* respectivamente. La sensibilidad de *Aplisol* y *Tubersol*, estimada en pacientes TB bacteriológicamente positivos, fue 98.5 y 92.0% respectivamente. La previsible relación inversa entre sensibilidad y especificidad no arrojó diferencias significativas²⁸.

Hasta inicios de la década de los 90 el PPD-RT23 era distribuido a través de la OMS en los países de América Latina, en solución concentrada o liofilizado. Una vez diluido y evaluado era empleado en los centros de salud para efectuar pruebas tuberculínicas, o como referencia para estandarizar otros PPD producidos²⁹. Actualmente el laboratorio productor (*Statens Serum Institut*, Copenhague) sólo distribuye comercialmente el PPD RT23 listo para usar (2UI/ 0.1 ml)³⁰.

Algunos países, entre ellos Francia, Italia, Gran Bretaña y Japón, producen su propio PPD siguiendo las Normas Internacionales³¹⁻³⁴. Por otra parte, varios países, algunos en América Latina, que deben importar PPD, han tenido serios problemas de provisión en los últimos 15 años. En la Argentina, el laboratorio productor de PPD bovino y aviar de referencia (OPS/ OMS)³⁵, produjo en

1994 un lote de PPD de *M. tuberculosis*, en colaboración con el ANLIS Carlos G. Malbrán y el Laboratorio Central de Salud Pública de la Provincia de Buenos Aires (INPPAZ, ANLIS Malbrán, LCSP Prov. Buenos Aires: Protocolo y Ficha Técnica Lote Tuberculina PPD 194, Informe Técnico, 1996). Recientemente, Brasil ha comenzado su propia producción³⁶.

En la Argentina se ha propuesto la validación de un lote concentrado de PPD para uso humano preparado recientemente en el Instituto Nacional de Producción de Biológicos, ANLIS Carlos G. Malbrán, así como la producción de un nuevo lote de PPD concentrado utilizando una selección de cepas de *M. tuberculosis* autóctonas representativas de los linajes prevalecientes en la región. Estos desarrollos se realizarán en el marco de un programa de acciones estratégicas (PAE) promovido por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva y cofinanciado con el Ministerio de Salud. El lote de producción local será evaluado frente al estándar internacional PPD-S (PAE 37245 preaprobado: "Investigación y desarrollo de un modelo de salud orientado a la prevención, diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis en Argentina").

Relación entre vacunación BCG y prueba tuberculínica positiva

Es razonable pensar que los criterios de positividad de la PTC deberían establecerse con base en el PPD utilizado y con la población analizada, según esté o no en vigencia la vacunación BCG y según se trate de contactos de casos (alto riesgo de TB) adultos o niños. Habitualmente las respuestas menores de 5 mm se consideran negativas y positivas aquellas ≥ 10 mm. Las respuestas entre 5 y 10 mm se clasifican como "indeterminadas" en individuos inmunocompetentes, pero positivas en sujetos con inmunosupresión, especialmente en infectados por HIV. Pero si la vacunación BCG se aplicó menos de 10 años antes y la prevalencia de TB es relativamente baja, el solo resultado de la PTC positiva no permite definir la presencia de infección TB³⁷. El posible efecto de la vacunación BCG sobre la PTC se plantea en los países donde se vacuna, o en aquellos de baja incidencia, en que no se vacuna pero se recibe inmigración proveniente de países en los que se vacuna³⁸.

Wang et al, en un meta-análisis, concluyeron que la reactividad puede variar en función del origen de la vacuna, la edad de vacunación y el intervalo entre la vacunación y la prueba³⁹. Una reacción fuertemente positiva (≥ 15 mm) es, con altísima probabilidad, debida a infección TB y no a efecto de la vacunación, especialmente en regiones de elevada incidencia de TB⁴⁰. El valor de la PTC como método de *screening* para LTBI depende de la edad del paciente y de la incidencia de TB en su país

de origen y sería de poca utilidad en menores de dos años vacunados⁴¹.

En Venezuela, en un estudio en niños de comunidades indígenas, se confirmó la escasa influencia de la vacunación BCG, después de 10 años de haberla recibido, sobre la positividad de la PTC. En esas comunidades la PTC conservaría su valioso papel en la evaluación de contactos de casos de TB, aun en niños vacunados, permitiendo diagnosticar la infección y proteger a los infectados con QPF⁴². En poblaciones aborígenes de Canadá, Reid et al compararon la respuesta a la PTC en 1086 niños con vacunación BCG neonatal y 1867 niños no vacunados. Los resultados dependían del criterio de positividad; si éste era ≥ 5 mm, habían más reacciones en el grupo vacunado; si el criterio de positividad era ≥ 10 mm también habían PTC positivas por vacunación en menores de un año, pero la proporción de positivos no difería en ambos grupos para edades de 4 años o mayores⁴³.

En Taiwan compararon las PTC en 783 niños de 3 meses a 14 años de edad que habían recibido BCG neonatal con 2504 niños de 7 años no vacunados. Concluyeron que la reacción tuberculínica debida a la vacunación neonatal alcanza su nadir a los 6-7 años. A esta edad una reacción ≥ 10 mm al PPD debe considerarse debida a infección TB⁴⁴. Finalmente, Farhat et al, después de analizar resultados que incluían 240 203 sujetos que habían recibido BCG neonatal o en el primer año de vida, hallaron que 8.5% presentaban PTC ≥ 10 mm, que podría atribuirse a la vacunación. Pero ese porcentaje bajaba a 1% si el BCG había sido aplicado 10 años antes o más⁴⁵.

En síntesis, el efecto del BCG recibido en la infancia sobre la PTC es mínimo, especialmente pasados los 10 años. Si la vacuna fue aplicada después de la infancia, sí podría interferir con la PTC. Una consecuencia lógica de estas investigaciones es que las encuestas tuberculínicas para medir riesgo anual de infección podrían hacerse en niños de 6-7 años de edad cuando la vacuna se haya aplicado al nacimiento y no haya habido revacunación posterior. Esa edad resulta operacionalmente conveniente por ser la de ingreso escolar. Incidentalmente: revacunar entre los 7 y 14 años parece no agregar protección adicional contra la TB y no debería recomendarse, de acuerdo a los resultados de un exhaustivo estudio realizado en Brasil⁴⁶.

Las pruebas de interferón gamma (IFN- γ) o IGRA

Estas pruebas detectan el IFN- γ producido *ex-vivo* por linfocitos circulantes en presencia de antígenos de *M. tuberculosis*. Inicialmente, se empleó como antígeno el mismo PPD de *M. tuberculosis* (PPD-T) que se emplea en la PTC. Como antígeno control se incluyó PPD de *M.*

avium (PPD-A). La detección consistía en un ELISA de captura. Los resultados derivaban de la diferencia entre respuesta al PPD-T y al PPD-A. La *Food and Drug Administration* (FDA) de los EE.UU. aprobó el *QuantiFERON TB* (QFT) para uso en humanos en 2001⁴⁷. Una prueba similar, con PPD bovino y aviar había sido ya aplicada al ganado bovino en Australia⁴⁸ y en otros países⁴⁹, y también evaluada experimentalmente en la Argentina⁵⁰.

Más tarde, el PPD fue reemplazado por los péptidos ESAT-6 (*early secretory antigenic target 6*) y CFP-10 (*culture filtrate protein 10*) codificados por genes localizados en el segmento RD-1 del genoma de *M. tuberculosis*. Estos péptidos están presentes en todas las especies patógenas del complejo *M. tuberculosis*, pero presuntamente ausentes en BCG y en la mayor parte de las micobacterias ambientales. Por lo tanto, no se esperaba que las respuestas positivas sean debidas a previa vacunación con BCG o a sensibilización por micobacterias ambientales, sino específicamente a la infección tuberculosa^{51, 52}. Cabe destacar sin embargo, que *M. leprae*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. szulgai* y algunas micobacterias ambientales también poseen ESAT-6 y CFP-10, por lo que la anunciada especificidad de estos antígenos resultaría discutible^{53, 54}.

Las pruebas que, mediante ELISA de captura, miden las concentraciones de IFN- γ liberado al plasma son *QuantiFERON-TB Gold* (QFT-G), y *QuantiFERON-G in tube* (QFT-GIT), ambos producidas por *Cellectis Ltd.*, Australia, y las que miden la cantidad de células productoras de IFN- γ son ELISPOT (no comerciales) y *T-SPOT.TB* (*Oxford Immunotec*, Oxford, Inglaterra)^{16-20, 55}.

La FDA aprobó el QFT-G en 2004 y más recientemente el *T-SPOT.TB*, ya antes aprobado para uso humano en Europa¹⁷⁻¹⁹. En las guías sobre uso de QFT-G se aclara que no debe usarse en la evaluación de contactos de casos infecciosos, cuando son menores de 17 años, embarazadas, o pacientes con inmunosupresión, incluyendo la infección por HIV, en razón de la falta de estudios en esas poblaciones⁵⁵. Finalmente, el *kit* del QFT-GIT fue aprobado para uso en EE. UU. en 2007. Consta de dos tubos especiales: uno cubierto internamente con los denominados péptidos específicos de *M. tuberculosis*, ESAT-6, CFP-10 y TB7.7 (Rv2654), y otro sin antígenos (control negativo)²⁰.

¿Cuál es la sensibilidad de estos métodos?

La sensibilidad de un método diagnóstico es su capacidad para detectar la presencia de enfermedad o, dicho de otra forma, la proporción de resultados positivos en una población de enfermos "verdaderos" identificados por un *gold standard*, que es el diagnóstico de certeza de la enfermedad. Pero como no existe un *gold standard* diag-

nóstico para la infección tuberculosa, varios estudios han evaluado estas nuevas pruebas sustituyendo infectados por enfermos TB. En realidad, no se conoce si la sensibilidad determinada en "verdaderos positivos con TB activa" es directamente extrapolable a los infectados no enfermos, que es el grupo para el cual han sido diseñadas estas pruebas. En ellos sólo se puede confirmar la infección por la aparición de enfermedad, lo que requiere estudios longitudinales prospectivos, con un tiempo prolongado de seguimiento. Estos estudios son criticables desde el punto de vista ético, ya que en ellos no se aplicaría QPF para proteger de la enfermedad TB a los contactos probablemente infectados. Una alternativa son los estudios de corte, en que se seleccionan poblaciones con distinta magnitud de riesgo de infección, de acuerdo a la cercanía con un caso infeccioso (fuente) y al tiempo de contacto, y se compara en ellas la respuesta a la prueba a evaluar *versus* la estándar. Es preciso destacar que el error de más graves consecuencias en estas pruebas es una baja sensibilidad porque implica dejar sin eventual control o protección a los verdaderos infectados no detectados⁵⁶.

En los últimos años se ha publicado una gran cantidad de artículos, la mayoría proveniente de países con baja incidencia de TB, en los que se compara la positividad de las pruebas de IFN- γ (IGRA) con la PTC (estándar) en poblaciones muy diversas en cuanto a tamaño y características. Según una revisión sistemática de 38 estudios publicados entre 2004 y 2008⁵⁷, la sensibilidad media de estas pruebas en casos de TB con confirmación bacteriológica fue la siguiente: *QFT-G*: 0.78 (IC 0.73-0.82), *QFT-GIT*: 0.70 (0.63-0.78) y *T-SPOT.TB*: 0.90 (0.86-0.93). La sensibilidad media de PTC fue 0.77 (0.71-0.82). De acuerdo a este análisis *T-SPOT.TB* sería más sensible que las otras dos IGRA y que la PTC.

Los resultados de algunos estudios más recientes no incluídos en dicho análisis están resumidos en la Tabla 1⁵⁸⁻⁶⁷. En general, en los contactos de casos de TB (niños y adultos), en familias de inmigrantes⁵⁸⁻⁶¹ y en trabajadores de salud con mediano o alto riesgo de infección⁶²⁻⁶⁴, la PTC presenta mayor porcentaje de resultados positivos que *QFT-G*, *QFT-GIT* o *T-SPOT.TB*. En varios de estos estudios⁶⁰⁻⁶⁴ la discrepancia entre los resultados de IGRA y PTC es llamativa. Por otra parte, en niños con alta sospecha de enfermedad, si bien se halla mayor positividad con PTC, las diferencias son poco significativas⁶⁵. En una población con HIV/sida y baja prevalencia de infección TB, la concordancia entre PTC, *QFT-GIT* y *T-SPOT.TB* fue muy baja. En pacientes con ≤ 200 células CD4/ μ l en sangre la PTC fue negativa y las pruebas IGRA tuvieron en general resultados "indeterminados"⁶⁶. Sería recomendable realizar estudios similares en sitios donde ambas infecciones (HIV y TB) son prevalentes.

En un estudio realizado en Bahía (Brasil), zona de alta incidencia de TB en donde, como en nuestro país, la

vacuna BCG se aplica durante el primer mes de vida, Machado et al⁶⁷ observaron que las PTC positivas fueron más frecuentes que los IGRA positivos en contactos que cohabitaban con casos de TB (Tabla 1). A pesar de que 76% de los participantes presentaban cicatriz vacunal, no se observaron diferencias en la media de edad entre los grupos (PTC+/IGRA-) y (PTC-/IGRA-), ni mayor porcentaje de vacunados entre los primeros, por lo que en este grupo la vacunación pareció no influir en la respuesta a PTC. La respuesta (PTC+/QFT-) estuvo más relacionada con Rx de tórax anormal y contacto con casos bacilíferos que la (PTC-/QFT+), aunque esta última combinación de respuestas sólo se presentó en 17 casos. Con base en estos resultados los autores consideran que en Brasil, por el momento, la decisión de iniciar QPF a los contactos debe seguir guiándose por la respuesta a PTC.

Se podría considerar que, en general, la PTC tiene mayor sensibilidad, aunque los mayores porcentajes de respuestas positivas podrían también deberse a una menor especificidad. Con este razonamiento, en Gran Bretaña se adoptó el *QTF-G* como prueba confirmatoria de infección reciente después de una PTC positiva. La muestra de sangre se toma el día de la lectura de la PTC para evitar cualquier efecto *booster*^{68,69}.

Cabe señalar que las respuestas a las pruebas IGRA parecen ser dinámicas y, especialmente las débiles, fluctúan en el tiempo. Recientemente se observó una importante variación en las respuestas sucesivas de los sujetos estudiados por *T-SPOT.TB* y *QFT-GIT*, con aparentes conversiones y reversiones en 7/26 (27%)⁷⁰. Según Pai y O'Brien, la evidencia acumulada sobre el significado de la conversión tuberculínica contrasta con la falta de definiciones sobre reversión y conversión de los IGRA y su posible interpretación clínica⁷¹.

Hasta el momento, tampoco existe evidencia de que las pruebas de IFN- γ permitan diferenciar entre infección y enfermedad. En teoría eso sería posible, sin embargo, si se les incorporaran antígenos marcadores específicos, ya sea de infección latente o de enfermedad activa. Investigaciones en ese sentido están también contempladas en el PAE arriba mencionado, en relación al desarrollo de un *kit* IGRA diagnóstico producido en el país.

¿Y la especificidad?

La especificidad de una prueba para detectar infección TB es su capacidad de dar resultado negativo en quienes no están infectados. La entidad en que se mide, sujetos sin aparente riesgo de infección, resulta de variable confiabilidad como controles. Mazurek et al la estimaron en una población de reclutas de la Marina de EE.UU. considerada de bajo riesgo. La especificidad de la PTC, con límites ≥ 10 mm y ≥ 15 mm fue respectivamente 98.4 y 99.1%, y la de *QFT* y *QFT-G* 92.3 y 99.8% en ese or-

TABLA 1.– Positividad de la prueba tuberculínica (PTC) y de las pruebas de interferón gamma (IFN- γ , IGRA) en diferentes poblaciones. Resultados de 10 estudios recientes no incluidos en la revisión sistemática de Pai et al⁵⁷

Estudio, año ^(referencia)	Nº y características de participantes	PTC (+) N (%)	Pruebas de IFN- γ (IGRA)		
			QFT-GIT N (%)	QFT-G N (%)	T-SPOT-TB N (%)
Connell et al, 2008 ⁵⁸	38 niños, PTC(+), convivientes de casos TB	38 (100)	–	18 (47)	15 (39)
Domínguez et al, 2008 ⁵⁹	125 niños, convivientes de casos TB	106 (85)	–	44 (35)	45 (36)
Diel et al, 2009 ⁶⁰	812 convivientes de casos de TB	812 (100)	–	245 (30)	235 (29)
Nienhaus et al, 2008 ⁶¹	1033 convivientes de casos TB y trabajadores de salud	191 (19)	–	100 (10)	–
Pollock et al, 2008 ⁶²	143 trabajadores de salud PTC(+)	143 (100)	–	26 (18)	5 (14)
Lee et al, 2008 ⁶³	39 trabajadores de salud, vacunados BCG, alta exposición a TB	33 (85)	4 (10)	–	–
O'Neal et al, 2009 ⁶⁴	61 adultos, exposición laboral a caso TB	31 (51)	17 (28)	–	–
Kampmann et al, 2009 ⁶⁵	91 niños, sospecha de TB activa	76 (83)	–	73 (80)	53 (58)
Talati et al, 2009 ⁶⁶	Adultos HIV(+), área con baja prevalencia de TB	7/278 (2.5)	–	9 /336 (2.7)	14/336 (4.2)
Machado et al, 2009 ⁽⁶⁷⁾	Convivientes de casos TB	145/261(56)	–	127/298 (43)	–

Los porcentajes menores de diez se presentan redondeados. TB: tuberculosis; PTC: prueba tuberculínica cutánea; QFT-G: QuantiFERON-TB Gold; QFT-GIT: QuantiFERON-TB Gold in tube; IGRA: sigla correspondiente a "interferon gamma release assays".

den. Las diferencias de especificidad entre PTC \geq 15 mm y QFT-G no fueron significativas. Por otra parte, los reclutas nacidos en países de alta prevalencia de TB tuvieron una probabilidad 26 a 40 veces mayor que el resto de presentar PTC positiva y QFT-G negativo⁷².

En el meta-análisis antes citado, Pai et al⁵⁷, hallan en adultos de regiones con baja incidencia de TB, para ambos QFT (G y GIT), una especificidad de 0.99 (0.98-1.00) donde la BCG no se aplica, y 0.96 (0.94-0.98) donde se vacuna, lo que indicaría que si bien en estos IGRA se emplean antígenos "específicos", la respuesta cruzada con BCG no desaparece totalmente. El valor medio para especificidad, incluyendo ELISPOT y T-SPOT.TB, fue 0.93 (0.86-1.00); y para el T-SPOT.TB comercial sólo llegó a 0.87 (0.80-0.92). La especificidad de PTC en áreas sin BCG fue 0.97 (0.95-0.99), pero resultó baja y variable en donde se vacuna, dependiendo si ésta se aplica sólo al nacer, después de la infancia o si hay múltiples vacunaciones.

Toda esta información parece confirmar que la esperada relación inversa entre sensibilidad y especificidad se sigue cumpliendo⁵⁶. Debemos recordar además, que

tanto la PTC, como las pruebas de IFN- γ son una medida indirecta de exposición del huésped a *M. tuberculosis* y sólo son pruebas suplementarias en el diagnóstico de enfermedad e indicativas u orientadoras en el de infección. En ningún caso alcanzan sensibilidad o especificidad de 100%.

Costos y relación costo - efectividad

La viabilidad de los linfocitos periféricos es crucial en las pruebas IGRA, por eso las muestras de sangre deben procesarse dentro de las 8 horas de la recolección. Se necesitan servicios rápidos de transporte de muestras refrigeradas, y para el procesamiento, agitador, lavador, lector de ELISA, incubador, cabina de bioseguridad y computadora. Todo esto y el personal calificado necesario, limita la realización de estas pruebas a laboratorios con cierto grado de complejidad. El costo es similar ya se procese una muestra o las 20 que colman la capacidad de una placa de microtitulación. Los costos de laboratorio suman el 83% del total, la extracción de sangre y el

transporte de las muestras cubren el resto. Las pruebas que enumeran células productoras de IFN- γ requieren aún mayor infraestructura y pericia técnica. También se deben considerar como pérdida los resultados "indeterminados". En San Francisco, California, en 2006, el costo de *QFT* era de 34.89 dólares de EE.UU. (USD) y los estimados para *QFT-G* y *T-SPOT.TB* respectivamente de USD 37.39 y 57.79⁷³.

El costo de una PTC fue determinado en 4 hospitales de EE.UU. en 2003, con más de 18 000 pruebas efectuadas. Considerando sólo reactivos y materiales era de USD 0.80 (0.49-2.63)⁷⁴. A estos costos se les agregaban los indirectos de implementación y mantenimiento de un programa de PTC en trabajadores de salud. En Brasil, de acuerdo a un documento de OMS, el costo por dosis de PPD adquirida al por menor sería USD 2.73, y el de producción USD 0.97. La distribución agregaría, en diferentes lugares, entre 50 y 100% al costo de manufactura. Se estima además una pérdida del 50% de las dosis contenidas en un vial⁷⁵.

El PPD diluido listo para usar (2UT/0.1 ml) tiene una vida útil aproximada de 12 meses bajo refrigeración. Una vez abierto debe descartarse en 30 días^{76, 77}. Esto hace que sea especialmente importante controlar el vencimiento a la llegada del producto importado y programar su empleo para un lapso limitado.

En farmacias de la Argentina, un vial de PPD RT23, *SSI* (1.5 ml, 2 UT/0.1 ml) costaba el equivalente a USD 22.00 en marzo de 2009. Asumiendo una pérdida de 50%⁷⁵ esto significaría algo más de 3 dólares por dosis. Para la aplicación y lectura de la PTC se debe contar con un espacio apropiado, refrigerador, jeringas y personal de enfermería especializado. Se requiere una segunda visita a la clínica para la lectura, lo que se anota usualmente como una desventaja frente a los IGRA. Sin embargo, esa segunda visita puede ser ventajosa, ya que facilita la aplicación de otras pruebas diagnósticas o el comienzo de la QPF. Las pruebas IGRA también requieren una segunda visita para recepción de resultados y consulta clínica.

Una estrategia recomendada en países de baja incidencia de TB, consiste en aplicar PTC a todos los contactos de casos, y un IGRA como prueba confirmatoria, sólo a los que resultan PTC positivos. Ello permitiría ahorrar costos con respecto a la aplicación de IGRA como prueba única, y además puede mejorar la especificidad diagnóstica, ya que los posibles falsos positivos a la PTC por vacunación BCG, resultarán negativos al IGRA^{68, 73, 78-80}. Pero, ¿y si, como se podría inferir de trabajos aquí comentados, fuera la mayor sensibilidad de la PTC y no su menor especificidad la responsable de este "exceso" de positivos? Entonces habría que considerar el costo de mantener sin tratar los "falsos negativos" de los IGRA, que serían infecciones latentes y posibles futuros casos de TB.

En donde la incidencia es mediana o alta, como ocurre en toda América Latina, se debe privilegiar la sensibilidad para no perder oportunidades, ya sea de prevenir la enfermedad mediante QPF o de completar su diagnóstico y tratamiento. Sabemos que la vacunación BCG neonatal, única actualmente recomendada en la Argentina⁸¹, muy improbablemente sea causa de reacciones positivas a la PTC (≥ 10 mm) después de 10 años (o aún menos) de haberse aplicado. A esto se agregan las ventajas de costo y la sencillez operacional de la PTC resaladas en los estudios de Venezuela y de Brasil^{42, 67}.

Por estas razones, respondiendo a la pregunta que encabeza este artículo, en países como la Argentina, la prueba tuberculínica (efectuado con PPD de calidad garantizada, leída e interpretada según normas estándar) resulta un elemento de valor suficiente para el diagnóstico de la infección tuberculosa. Se debe recordar que, como todas las pruebas diagnósticas, la PTC no es un fin en sí misma, sino que debe ir seguida de las medidas de prevención, protección o terapéuticas que correspondan, y que para el diagnóstico de enfermedad TB su valor es sólo complementario.

El PPD es un reactivo cuya producción y control son relativamente sencillos y económicos y que seguirá siendo necesario para el control de la TB, al menos durante una década. Actualmente sólo lo producen unos pocos laboratorios a escala internacional. Por ello es necesario que su producción sea asumida por instituciones nacionales, para cubrir las necesidades del país con menores costos que el importado comercialmente y aun para abastecer a otros países de la Región.

Además, la búsqueda de una prueba más específica para el diagnóstico de la infección TB, con mejor sensibilidad que las actualmente en uso y un costo accesible, constituye un objetivo de interés para la investigación. A ello se agrega la posible aplicación de estos métodos en la exploración de la respuesta inmune para otras infecciones, tanto en salud pública como en veterinaria^{82, 83}.

Las discrepancias entre los nuevos métodos y la antigua PPD plantean interrogantes de interés tanto práctico como científico y aún quedan varias cuestiones a resolver respecto al rol de los IGRA en el diagnóstico de la TB latente^{70, 71}. Los estudios prospectivos de cohorte podrían definir cuál de estas pruebas predice mejor la evolución a TB activa, es decir, cuál identifica mejor a las personas que más se beneficiarán con la QPF⁸⁴. Una vez definido esto, la QPF podría restringirse a los que tengan alto riesgo de desarrollar TB y condiciones para cumplirla⁸⁵. Además, tanto el mejor conocimiento sobre las causas de las discordancias entre las pruebas como la identificación de nuevos antígenos podrán contribuir a dilucidar viejas cuestiones sobre la relación entre infección y enfermedad, fundamentales para el control de la tuberculosis en todo el mundo.

Agradecimientos: Al Dr. Antonio Pio y al Prof. Dr. Richard Urbanczik por la revisión crítica del manuscrito, las referencias y comentarios aportados. Al Dr. Adalbert Laszlo, asimismo, por sus valiosas sugerencias.

Conflictos de interés: Ninguno a declarar.

Bibliografía

- WHO. Global tuberculosis control - surveillance, planning, financing. WHO Report 2009. WHO/HTM/TB/2009.411. En: http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/pdf/full_report.pdf; consultado 24/03/09.
- WHO Immunization surveillance, assessment and monitoring. En: www.who.int/immunization_monitoring/diseases/tuberculosis/en/index.html; consultado 15/03/09.
- Teo SS, Shingadia DV. Does BCG have a role in tuberculosis control and prevention in the United Kingdom? *Arch Dis Child* 2006; 91: 529-31
- Perronne C. Current data on vaccines for respiratory diseases. *Med Mal Infect* 2008;38: 443-8.
- Möhrenschlager M, Haberl VM, Krämer U, Behrendt H, Ring J. Early BCG and pertussis vaccination and atopic diseases in 5- to 7-year-old preschool children from Augsburg, Germany: results from the MIRIAM study. *Pediatr Allergy Immunol* 2007; 18: 5-9.
- American Thoracic Society/ Centers for Disease Control and Prevention/ Infectious Diseases Society of America: Controlling Tuberculosis in the United States. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 1169-227
- WHO. WHO Stop TB Strategy. En: www.who.int/tb/strategy/en/index.html; consultado 15/03/09.
- Bierrenbach AL, Floyd S, Cunha SC, et al. A comparison of dual skin test with mycobacterial antigens and tuberculin skin test alone in estimating prevalence of *Mycobacterium tuberculosis* infection from population surveys. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7: 312-9.
- Kantor IN de, Miceli I, Pérez C, Colaiacovo D. Respuesta a tuberculinas PPD de *Mycobacterium tuberculosis* y de otras micobacterias en niños de 1 a 6 años. *Medicina (Buenos Aires)* 1986; 46: 709-12.
- Pio A, Chaulet P. Tuberculosis Handbook. WHO/CDS/TB/2003.320. Geneva: World Health Organization, 2003.
- Woolwine SA, Bishai WR. Overview of the pathogenesis of tuberculosis from a cellular and molecular perspective. In: Reichman and Hershfield's Tuberculosis. A Comprehensive, International Approach. Ed. Mario C. Raviglione, WHO. Third Ed. Part A, Chapter V, New York: Informa Healthcare, 2006.
- Styblo K: Epidemiology of tuberculosis, Selected Papers, vol. 24, The Hague: KNCV, 1991, p 47.
- Miceli IN, Sequeira MD, Kantor IN de: La tuberculosis infantil y su diagnóstico en la Argentina. *Medicina (Buenos Aires)*, 2002; 62: 585-92.
- Cauthen GM, Pio A, ten Dam HG. Annual risk of tuberculous infection. 1988. *Bull World Health Organ* 2002; 80: 503-11; Discussion: 501-2.
- Anonymous. Tuberculin intradermal reaction (IDR) or tuberculin test. *Med Mal Infect* 2004, 34: 358-63.
- Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection with an interferon-gamma assay using novel antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 59-64.
- Lalvani A, Pathan AA, McShane H, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 824-828.
- U.S. Food and Drug Administration. New device approval. T-SPOT®.TB-P070006. En: www.fda.gov/cdrh/MDA/DOCS/p070006.html; consultado 16/2/09.
- ELISPOT. En: <http://es.wikipedia.org/wiki/ELISPOT>; consultado 16/2/09.
- QuantiFERON-TB Gold in-tube. Cellestis. En: http://www.cellestis.com/IRM/Content/aust/qttfproducts_tbgoldintube.html; consultado 16/2/09.
- Kantor IN, Marchevsky N, Lesslie IW. Respuesta al PPD en pacientes tuberculosos infectados por *Mycobacterium tuberculosis* y por *M. bovis*. *Medicina (Buenos Aires)* 1976 ;36: 127-30.
- Hart PD, Sutherland I. BCG and vole bacillus vaccines in the prevention of tuberculosis in adolescence and early adult life. *Br Med J* 1977; 30: 293-5.
- Xavier Emmanuel F, Seagar AL, Doig C, Rayner A, Claxton P, Laurenson I. Human and animal infections with *Mycobacterium microti*, Scotland. *Emerg Infect Dis* 2007; 13:1924-7
- Seibert FB, Glenn JT. Tuberculin purified protein derivative: preparation and analyses of a large quantity for standard. *Amer Rev Tuberc* 1941; 41: 9-25.
- American Thoracic Society. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 161: 1376-95.
- Magnusson M, Bentzon M W. Preparation of purified Tuberculin RT23. *Bull World Health Organ* 1958; 19: 829-43.
- Guld J, Bentzon M W, Bleiker M A, Griep W A, Magnusson M, Waaler H. Standardization of a new batch of Purified Tuberculin (PPD) intended for international use. *Bull World Health Organ* 1958; 19: 845-951.
- Villarino M, Brennan MJ, Nolan ChM, et al. Comparison testing of current (PPD-S1) and proposed (PPD-S2) Reference Tuberculin Standards. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 161: 1167-71.
- Kantor IN, Spizzamiglio G, Costa A, García V. The quality control of tuberculin PPD products from seven Latin American laboratories. *J Biol Stand* 1989; 17: 233-9.
- Statens Serum Institut Tuberculin PPD RT 23 SSI. En: <http://www.ssi.dk/sw4248.asp>; consultado 24/3/09.
- WHO Expert Committee on Biological Standardization. Requirements for tuberculins. Twenty Report. WHO: Geneva, 1968.
- Differences between the summary of product characteristics of the Tuberculin PPD solutions available from Chiron vaccines Evans and SSI. En: http://www.immunisation.nhs.uk/files/PPD_difference.pdf; consultado 16/2/09.
- BiomedExperts. En: http://www.biomedexperts.com/Abstract.bme/15830261/Future_supply_of_tuberculin_in_Germany; consultado 17/2/09.
- Japan Freeze Dried Tuberculin. En: <http://home.intekom.com/pharm/biovac/japanppd.html>; consultado 17/2/09.
- OPS/OMS: Preparación y Estandarización de Tuberculinas PPD. Nota Técnica No.17, Rev.1 (I.N.Kantor y N.Marchevsky), Buenos Aires: CEPANZO, 1980.
- Dall' Stella R, Krieger MA, Burger M, Agottani JB, Chahad-Ehlers S, Thomaz-Soccol V. Development of bioprocess for the production of purified protein derivative with Brazilian strains of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis use. *J Biotechnol* 2007;127: 278-87.
- Flament-Saillour M, Perronne C. The natural history of TB infection and skin tuberculin reaction. *Rev Mal Respir* 1997, Suppl 5: S27- S32.
- Taylor Z, Nolan CM, Blumberg HM; American Thoracic Society; Centers for Disease Control and Prevention; Infectious Diseases Society of America. Controlling tu-

- berculosis in the United States. Recommendations from the American Thoracic Society, CDC, and the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep* 2005; 54 (RR-12): 1-81.
39. Wang L, Turner MO, Elwood RK, Schulzer M, FitzGerald JM. A meta-analysis of the effect of Bacille Calmette Guérin vaccination on tuberculin skin test measurements. *Thorax* 2002; 57: 804-9.
 40. Chadha VK. Tuberculin test. *Indian J Pediat* 2001; 68: 53-8 (Abstract).
 41. Joos TJ, Miller WC, Murdoch DM. Tuberculin reactivity in BCG vaccinated populations: a compilation of international data. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 883-91.
 42. Araujo Z, de Waard JH, de Larrea CF, Borges R, Convit J. The effect of BCG vaccine on tuberculin reactivity in indigenous children from communities with high prevalence of tuberculosis. *Vaccine* 2008; 26: 5575-81.
 43. Reid JK, Ward H, Marciniuk D, Hudson S, Smith P, Hoepfner V. The effect of neonatal BCG on PPD skin test results in Canadian aboriginal children. *Chest* 2007; 131: 1806-10.
 44. Chan P-C, Chang L-Y, Wu Y-C, et al. Age-specific cut-offs for the tuberculin skin test to detect latent tuberculosis in BCG-vaccinated children. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008; 12: 1401-6
 45. Farhat M, Greenaway C, Pai M, Menzies D. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria? *Int J Tuberc Lung Dis* 2006;10: 1192-204.
 46. Rodrigues LC, Pereira SM, Cunha SS, 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 (9443): 1290-5.
 47. Mazurek GH, Villarino ME. Guidelines for Using the QuantiFERON®-TB test for diagnosing latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *MMWR* 2003; 52 (RR02): 15-18.
 48. Wood PR, Corner LA, Rothel JS, et al. Field comparison of the interferon-gamma assay and the intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Aust Vet J* 1991; 68: 286-90
 49. World Organization for Animal Health. Manual of Diagnostic tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2008. Chapter 2.4.7, p 690-697. En: www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.04.07_BOVINE_TB.pdf; consultado 12/02/09.
 50. Ritacco V, López B, Barrera L, Nader A, Kantor IN. Reciprocal cellular and humoral immune responses in bovine tuberculosis. *Res Vet Sci* 1991; 50: 365-7.
 51. Menzies D, Mark Doherty T. Diagnosis of latent tuberculosis infection. In: Reichman and Hershfield's Tuberculosis. A Comprehensive, International Approach. Ed. Mario C. Raviglione, WHO. Third Ed. Part A, Chapter 9, New York: Informa Healthcare, 2006.
 52. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170: 65-69.
 53. Arend SM, de Haas P, Leyten E, et al. ESAT-6 and CFP-10 in clinical versus environmental isolates of *Mycobacterium kansasii*. *J Infect Dis* 2005; 191: 1301-10.
 54. Gey van Pittius NC, Warren RM, van Helden PD. ESAT-6 and CFP-10: what is the diagnosis? *Infect Immun* 2002; 70: 6509-10.
 55. Mazurek GH, Jereb J, LoBue P, et al. Guidelines for using the QuantiFERON®-TB Gold Test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States *MMWR* 2005; 54(RR15): 49-55.
 56. Marchevsky N, Held JR, García-C C. Probability of introducing diseases because of false negative test results. *Am J Epidemiol* 1989; 130: 611-4.
 57. Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med* 2008;149: 177-84.
 58. Connell TG, Ritz N, Paxton GA, BATTERY JP, Curtis N, Ranganathan SC. A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB Gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS ONE* 2008; 3: e2624.
 59. Domínguez J, Ruiz-Manzano J, De Souza-Galvão M, et al. Comparison of two commercially available gamma interferon blood tests for immunodiagnosis of tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15: 168-71.
 60. Diel R, Loddenkamper R, Meywald-Walter K, Gottschalk R, Nienhaus A. Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold in tube assay, and T-SPOT.TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest* 2009; 135: 1010-18.
 61. Nienhaus A, Schablon A, Diel R. Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent TB infection-analysis of discordant results, when compared to the tuberculin skin test. *PLoS ONE* 2008; 3: e2665.
 62. Pollock NR, Campos-Neto A, Kashino S, et al. Discordant QuantiFERON-TB Gold test results among US healthcare workers with increased risk of latent tuberculosis infection: a problem or solution? *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29: 878-86.
 63. Lee SS, Liu YC, Huang TS, et al. Comparison of the interferon- gamma release assay and the tuberculin skin test for contact investigation of tuberculosis in BCG-vaccinated health care workers. *Scand J Infect Dis* 2008; 40: 373-80. 135: 1010-8, Epub 2008 nov.18.
 64. O'Neal S, Heldberg K, Markum A, Schafer S. Discordant tuberculin skin and interferon-gamma tests during contact investigations: a dilemma for tuberculosis controllers. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13: 662-664.
 65. Kampmann B, Whittaker E, Williams A, et al. Interferon-gamma release assays do not identify more children with active TB than TST. *Eur Respir J* 2009 Feb 5. [Epub ahead of print]
 66. Talati NJ, Seybold U, Humphrey B, et al. Poor concordance between interferon-gamma release assays and tuberculin skin tests in diagnosis of latent tuberculosis infection among HIV-infected individuals. *BMC Infect Dis* 2009 Feb 10; 9:15.
 67. Machado A, Emodi K, Takenami I, et al. Analysis of discordance between the tuberculin skin test and the interferon-gamma release assay. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13: 446-53.
 68. National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). En: <http://www.nice.org.uk>; consultado 13/03/09.
 69. Leyten EM, Prins C, Bossink AW, et al. Effect of tuberculin skin testing on a *Mycobacterium tuberculosis*-specific interferon- γ assay. *Eur Respir J* 2007; 29: 1212-6.
 70. van Zyl-Smit RN, Pai M, Pehrah K, et al. Within subject variability and boosting of T cell interferon- γ response following tuberculin skin testing. *Am J Respir Crit Care Med* 2009 Apr 29 (Epub ahead of print).
 71. Pai M, O'Brien R. Serial testing for tuberculosis: Can we make sense of T cell assay conversions and reversions? *PLoS Med* 2007, 4(6): e208.
 72. Mazurek GH, Zajdowicz MJ, Hankinson AL, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in United States Navy recruits using the tuberculin skin test or whole-blood interferon-gamma release assays. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 826-36.
 73. Dewan PK, Grinsdale J, Liska S, Wong E, Fallstad R, Kawamura LM. Feasibility, acceptability, and cost of tu-

- berculosis testing by whole-blood interferon-gamma assay. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 47.
74. Lambert L, Rajbhandary S, Qualls N, et al. Costs of implementing and maintaining a tuberculin skin test program in Hospitals and Health Departments. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 24: 814-20 (Table 1).
 75. World Health Organization. Diagnostic for tuberculosis. Global Demand and Market Potential. Geneva: TDR, FIND SA, 2006. En: <http://www.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/diagnostics-tuberculosis-global-demand/pdf/tbdi.pdf>, consultado el 24/4/09.
 76. Magnus K, Guld J, Waaler H. Stability of Purified Tuberculin in high dilution. *Bull World Health Organ* 1958; 19: 765-82.
 77. NC TB Control Program Policy Manual (Rev.01/09), Chapter VI -1. En: <http://www.epi.state.nc.us/epi/gcdc/tb/tbmanual2007/Chapter%20VI.pdf>, consultado 6/4/09.
 78. Marra F, Marra CA, Sadatsafavi M, et al. Cost-effectiveness of a new interferon based blood assay, *Quantiferon-TB Gold*, in screening tuberculosis contacts. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008; 12: 1414-24.
 79. Oxlade O, Schwartzman K, Menzies D. Interferon-gamma release assays and TB screening in high-income countries: a cost-effectiveness analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11: 16-26.
 80. Diel R, Nienhaus A, Loddenkemper R. Cost-effectiveness of interferon-gamma release assay screening for latent tuberculosis infection treatment in Germany. *Chest* 2007; 131: 1424-34.
 81. Ministerio de Salud, R. Argentina. Resolución 195/ 2007: Eliminación de la vacunación de refuerzo con BCG al ingreso escolar o a los seis años. *Bol. Oficial*, año CXV, No. 31, 10 de marzo 2007, p 3.
 82. Heriazon A, Yager JA, Sears W, Mallard BA. Induction of delayed-type hypersensitivity and interferon-gamma to *Candida albicans* and anti-hen-egg white lysozyme antibody as phenotypic markers of enhanced bovine immune response. *Vet Immunol Immunopathol* 2009; 129: 93-100.
 83. Wallis RS, Doherty TM, Onyebujoh P, et al. Biomarkers for tuberculosis disease activity, cure, and relapse. *Lancet Infect Dis* 2009; 9: 162-72.
 84. Pai M, Menzies D. The new IGRA and the old TST: making good use of disagreement (Editorial). *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 529-31.
 85. Mack U, Migliori GB, Sester M, et al. LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune response to *M. tuberculosis*? A TBNET consensus statement. *Eur Respir J* 2009; 33: 956-73.

Je crois que la recherche, discipline faite de rigueur et de technique, est aussi un art. Un chercheur, comme un peintre, doit sentir le souffle du rêve pour sortir des sentiers battus et être vraiment créatif.

Creo que la investigación, disciplina hecha de rigor y de técnica, es también un arte. Un investigador, como un pintor, debe sentir el soplo de un sueño para salir de los senderos trillados y ser realmente creativo.

Alice Dautry

Directora General del Instituto Pasteur, Francia.
Le Journal du Dimanche (Supplément au N° 3246, 2009)