

Update on the development of a novel Mtb-specific skin Test

S T. Hoff, MD PhD.

Statens Serum Institute. Dept. of Infectious Disease Immunology. Copenhagen, Denmark
Email: sho@ssi.dk

Unlike the diagnosis of TB disease the latently infected individual is typically asymptomatic, most often without radiological signs and direct detection of the bacteria is not possible. The only way to diagnose latent infection is by detecting host immune response to *M. tuberculosis*-derived antigens and thus indirectly proving the (prior or present) presence of the bacteria.

Among tests presently used in clinical medicine, the tuberculin skin test also called PPD used for diagnosis of *M. tuberculosis* infection is one of the oldest: it was introduced into clinical use more than 100 years ago. PPD is a mixture of proteins, and this has led to acknowledged problems with false-positive reactions. This phenomenon is important and the reason that SSI is currently developing the *M. tuberculosis*-specific skin test preliminary named C-Tb.

To date C-Tb have been tested in two phase I and two phase II clinical trials, and three phase III studies are currently ongoing. The most important of these termed the TESEC-06 trials is a multicenter trial conducted in Spain under the direction of Professor

Joan A. Caylà. As no gold standard for latent infection exists, the design of TESEC-06 is made so that C-Tb is tested in four populations constituting an exposure gradient from presumed uninfected controls over occasional- and close contacts to confirmed TB patients. All subjects receive C-Tb and PPD TST (randomized and blinded) as well as Quantiferon TB Gold in tube testing. Thus PPD TST and Quantiferon tests are used as comparators. Recruitment is going very well and to date no disturbing safety signals have been seen. The trial is expected to end in 2013 or early 2014.

The overall aim is to use C-Tb for a specific diagnosis of *M. tuberculosis* infection in all patient groups where this diagnosis is required. In contrast to the PPD skin test, a single uniform cut-off is expected to be used for all populations regardless of BCG-vaccination status or HIV infection status. The potential for C-Tb to be used as a prognostic marker for future TB disease is not addressed in the pre-approval trials. However following EU approval a range of studies may address this and other important issues.

¿Ibuprofeno o aspirina en el tratamiento de la TB?

C Vilaplana, PJ Cardona

Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol.
Universitat Autònoma de Barcelona. CIBERES. Unitat de Tuberculosi Experimental.
Badalona (Barcelona) e mail: cvilaplana@gmail.com
Email: cvilaplana@gmail.com

LAS BASES CIENTÍFICAS

En el contexto de la búsqueda de nuevos modelos experimentales que puedan desarrollar lesiones que se asemejen a las que se observan en los humanos, en la Unitat de Tuberculosi Experimental se ha trabajado durante los últimos tres años en el diseño de un nuevo modelo animal muy reproducible de enfermedad activa. Basado en la modificación del modelo de ratón Kramnik, usado para estudios genéticos, nuestro modelo reproduce lesiones licuefactadas tras la infección via endovenosa con cepa H37Rv de *M. tuberculosis* de los ratones de la cepa C3HeB/FeJ¹. Tras 21 días post-infección, aparecen las primeras lesiones detectables, las cuales empeoran espectacularmente aproximadamente desde el día 28, a partir del cual se ven sometidas a un crecimiento exponencial y a un fenómeno de coalescencia, proceso que lleva a la muerte de los animales en los pocos días siguientes (alrededor del día 31). Las lesiones que presentan estos animales se caracterizan por ser lesiones muy grandes en que los alveolos se ven invadidos por una infiltración masiva por neutrófilos y con un centro de necrosis caseosa, con presencia de material amorfo, y que progresivamente evoluciona a una destrucción de las paredes alveolares y a la licuefacción del caseum (necrosis licuefactada). A pesar de que en un inicio atribuimos la formación de la licuefacción a una desregulación entre las fuerzas profibróticas y antifibróticas que se ven representadas en el pulmón en el contexto de la enfermedad tuberculosa, los experimentos en que se ensayaron diferentes fármacos que inciden en el proceso fibrótico demostraron que esta hipótesis era falsa. Así pues, la doxiciclina y la bleomicina no consiguieron mejorar la supervivencia de los ratones, pero la heparina sí. Este resultado, junto con la histopatología, que evidencia una gran infiltración neutrofílica, nos orientó a que la causa del efecto beneficioso de la heparina pudiera deberse a su actividad anti-inflamatoria, y nos alentó a probar el efecto del ibuprofeno. Los resultados fueron espectaculares. En

un estudio simple de concepto, en el que se incluyeron 60 ratones, se establecieron dos grupos experimentales: un grupo control y uno tratado con ibuprofeno a partir de día 21, cuando aparecían las lesiones (para evaluar efecto sobre la carga bacilar) o a partir de día 28, momento a partir del cual los animales empezaban a deteriorarse y a morir (para evaluar el efecto sobre la supervivencia). No se administraron antituberculosos, con el fin de no enmascarar el posible efecto del anti-inflamatorio. El tratamiento consiguió disminuir la afectación pulmonar, la carga bacilar en pulmón y la supervivencia de manera significativa. Los resultados fueron publicados en la revista Journal of Infectious Diseases el pasado año², acompañado de una editorial ad-hoc, y propiciaron nuevos estudios con el fin de caracterizar las respuestas inmunológicas e de inflamación y para evaluar el posible efecto beneficioso de la aspirina a baja dosis. El estudio del perfil inmunológico hecho con los animales tratados con ibuprofeno y control demostraron que los animales tratados tienen niveles menores de mediadores pro-inflamatorios tales como TNF- α , IL-17, IL-6 y CXCL5. La aspirina, por su parte, también demostró mejorar la supervivencia y la carga bacilar en pulmón, y de forma significativa¹. Rebajando el componente inflamatorio de las lesiones se modula su evolución a licuefacción, ayudando a su resolución.

Dado que existen trabajos en la literatura publicada que demuestran que ni el ibuprofeno ni la AAS son bactericidas por sí mismos in vitro³, los resultados obtenidos en nuestros trabajos in vivo en el modelo específico de enfermedad tuberculosa activa apuntan que la mejoría de las lesiones se debe a la modulación de la respuesta del huésped que efectúan ambos, de forma que esta es más balanceada y por lo tanto más beneficiosa. El papel de la inflamación en la enfermedad tuberculosa es algo clínicamente conocido, solo hace falta recordar el efecto beneficioso del tratamiento coadyuvante con corticosteroides que se aplica a ciertas formas de tuberculosis.

¿POR QUÉ VALE LA PENA INTENTARLO?

La tuberculosis mata 1,5 millones de personas cada año, y tiene un impacto negativo enorme tanto en la salud como en la economía, especialmente en los países con alta endemividad. Además, ciertas condiciones empeoran la situación: no existe una vacuna eficaz contra la infección, hay que tratar la enfermedad con varios fármacos durante mucho tiempo, esta empeora con la coinfección con HIV, y existen cepas multiresistentes a los fármacos conocidos⁴. En el mejor de los casos, la TB se cura en 6 meses, pero si la cepa es multiresistente este tiempo puede alargarse hasta 20 meses, teniendo un coste mucho más caro y aun así sin poderse asegurar la completa curación. Por otra parte, y a pesar de muchos esfuerzos en los últimos años, la esperanza de conseguir vacunas profilácticas más eficaces que la BCG se desvaneció hace unos meses, al fallar la más competente conseguida hasta el momento. El diseño y desarrollo de nuevas drogas no ofrece un futuro más esperanzador: entre el momento de la concepción de una nueva droga y su entrada en el mercado, pueden pasar más de 10 años.

Este panorama nos plantea un nuevo reto: hace falta pensar diferente, probar cosas nuevas... o repensar cosas viejas. Los antiinflamatorios comunes tales como el ibuprofeno y la aspirina ya están en el mercado, son baratos y a pesar de tener efectos secundarios estos son muy conocidos y son considerados fármacos seguros. El ibuprofeno, además, consta en las listas de medicinas esenciales de la OMS, incluso para uso pediátrico, que debería estar en el mínimo dispensario en cualquier lugar del mundo⁵. Esto, junto con la enorme implicación clínica que podrían tener nuestros resultados en el modelo experimental de ratón, creemos debería ser razón suficiente como para alentar a los

médicos a probar su eficacia en pacientes en cuanto lo consideren necesario y/ o beneficioso, y proponemos la realización de un ensayo clínico independiente para determinar su efecto como coadyuvante al tratamiento de los enfermos con tuberculosis activa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Marzo E, Vilaplana C, Tapia G, Diaz J, García V, Cardona PJ. Damaging role of neutrophilic infiltration in a mouse model of progressive tuberculosis. *Tuberculosis*. In press 2013.
2. Vilaplana C, Marzo E, Tapia G, Diaz J, García V, Cardona PJ. Ibuprofen is able to reduce the lung pathology, to decrease bacillary load in tissues and to increase survival in a new murine experimental model of active tuberculosis. *J Infect Dis*. 2013 Jul 15; 208(2): 199-202. doi: 10.1093/infdis/jit152. Epub 2013 Apr 5.
3. Byrne ST, Denkin SM, Zhang Y. Aspirin and ibuprofen enhance pyrazinamide treatment of murine tuberculosis. *J Antimicrob Chemother*. 2007; 59: 313-6.
4. World Health Organization. Global tuberculosis report 2012. WHO/HTM/TB/2012.6 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2012 [cited 2013 Sept 8]. Available from: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/index.html. Accessed 7 October 2012.
5. World Health Organization. Model list of essential medicines 3rd list [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2011 [cited 2013 Sept 10]. Available from: <http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/>. Accessed 19 November 2012.