JOURNAL OF FUNCTIONAL VENTILATION AND PULMONOLOGY
© 2012 JFVP. *www.jfvpulm.com. Print: ISSN 2264-7899. Online: ISSN 2264-0754*

J Func Vent Pulm 2012; 3(8): 1-65
DOI: 10.12699/jfvp.3.8.2012.6

REVUE GENERALE

Les actualités dans la tuberculose

The news in tuberculosis

R. Bouchentouf

Service de Pneumologie. Hôpital Militaire Avicenne
Laboratoire PCIM - Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marrakech
Université Cadi Ayyad. Marrakech. Maroc

SUMMARY

Tuberculosis is a major problem of public health in the worldwide .In 2010 WHO estimated 8,8 million new cases of tuberculosis. This led to1450000 deaths. The emergence of MDR, XDR and TDR represents a serious threat to the success of the struggle against tuberculosis.

Tuberculosis profited from several major advances in immunopathology, diagnosis, treatment and vaccination. This progress will be soon applied to improve the diagnosis (speed and reliability) and to shorten the treatment of tuberculosis.

Concerning diagnostic, the improvements have been reported and have increased the sensitivity and especially the rapidity in the diagnosis of tuberculosis by making available to the medical community new tools of essentially molecular biology. Recent studies have focused on improving the diagnosis of latent tuberculosis by in vitro tests with interferon and even biomarkers to distinguish between latent and active tuberculosis.

Regarding the treatment, there is a very promising program currently recommended in the US (Rifapentine-isoniazid once a week for 3 months), following a multicenter study of approximately 8000 patients showed that it is more effective than INH alone for 9 months, better monitoring and well tolerated.

KEYWORDS: Tuberculosis, diagnosis, treatment, immunotherapy, vaccination

RESUME

La tuberculose représente un problème de santé publique dans le monde. Sur le plan mondial le rapport de l'OMS fait état de 8,8 Millions de nouveaux cas ,1450000 décès en 2010. L'émergence de tuberculose MDR, XDR et actuellement TDR rend difficile la prise en charge de la tuberculose.

Celle-ci a bénéficié ces dernières années de plusieurs avancées majeures dans le domaine d'immunopathologie, du diagnostic, du traitement et de la vaccination. Ces progrès seront bientôt mis en application pour améliorer le diagnostic (rapidité et fiabilité) et raccourcir le traitement de la tuberculose.

Sur le plan diagnostique, des améliorations ont été rapportées et ont permis d'augmenter la sensibilité et surtout la rapidité du diagnostic de la tuberculose par la mise à la disposition de la communauté médicales de nouveaux outils essentiellement de la biologie moléculaire.

Des travaux récents se sont intéressés à améliorer le diagnostic de la tuberculose latente grâce aux tests in vitro à l'interféron et même des bio marqueurs pour distinguer entre tuberculose latente et tuberculose active.

Concernant le traitement un régime très prometteur est actuellement recommandé aux USA (Rifapentine-Isoniazide une fois par semaine pendant 3 mois), à la suite d'une étude multicentrique sur approximativement 8000 patients qui a démontré qu'il est plus efficace que l'INH seul pendant 9 mois, mieux suivi et bien toléré.

MOTS CLES: Tuberculose, diagnostic, traitement, immunothérapie, vaccination

Auteur correspondant: **Dr Rachid BOUCHENTOUF. Service de Pneumologie de l'Hôpital Militaire Avicenne. Maroc**
E-mail: bouchentouf_rachid@yahoo.fr

INTRODUCTION

La tuberculose a bénéficié ces dernières années de plusieurs avancées majeures dans le domaine d'immunopathologie, du diagnostic, du traitement et de la vaccination, et par l'élaboration de recommandations récentes par l'OMS et par le CDC (Centers for Disease Control (USA) et par la British thoracic society.

EPIDEMIOLOGIE

Sur le plan mondial le rapport de l'OMS fait état de 8,8 millions de nouveaux cas, 1 450 000 décès et 650 000 cas de tuberculose à BK multi résistants dont 16% seulement ont été traités (50% de ces cas surviennent dans les pays en développement) et 5,4% sont des tuberculoses XDR [1].

L'Inde est le pays qui compte à lui seul à peu près le quart de cas de tuberculose dans le monde on y estime 2 millions de nouveaux cas par an de tuberculose et 330 000 décès annuellement [2]. Dans ce pays et dans la ville de Mumbai les chercheurs ont identifié chez 12 patients des BK résistants à tous les antituberculeux connus et sont appelés TDR (totalement résistants). Ces cas de TDR ont été déjà rapportés en 2009 en Iran et en Italie en 2007 [3]. Au Maroc l'incidence de la tuberculose a augmenté en 2010 et 2011 (27 425 nouveaux cas avec une incidence de 83,5 pour 100 000 habitants. Il n'existe malheureusement pas de données statistiques sur la tuberculose MDR et XDR au Maroc.

La tuberculose MDR et XDR représente une menace sérieuse pour le succès de la lutte tuberculeuse. Il faut rappeler que la multi résistance complique le traitement antituberculeux en obligeant le recours à un traitement plus long plus onéreux et moins toléré, et constitue un facteur d'extension de la maladie car les sujets contaminés sont contagieux plus longtemps.

DIAGNOSTIC

Le diagnostic de la tuberculose se fait par détection du bacille soit à l'examen direct d'un échantillon (expectoration) au microscope, soit après mise en culture de ce même échantillon. Cette dernière procédure est cependant longue (plusieurs semaines), ce qui retarde d'autant le diagnostic.

Des améliorations ont été rapportées et ont permis d'augmenter la sensibilité et surtout la rapidité du diagnostic de la tuberculose par la mise à la disposition de la communauté médicales de nouveaux outils essentiellement de la biologie moléculaire.

L'examen microscopique reste essentiel car il permet un diagnostic très probable des tuberculoses les plus contagieuses et donc de prendre des mesures de prévention adéquates pour l'entourage. Cet examen est peu sensible on peut l'optimiser par l'introduction de microscopes utilisant la technologie LED (light– emitting diodes) [4]. Les nouveaux microscopes (fluorescents et à LED) sont plus sensible pour la détection de BAAR que les microscopes traditionnels et ce à moindre coût à long terme.

La culture de BK reste l'étalon d'or pour le diagnostic de la tuberculose, cependant le temps de réplication des mycobactéries implique une incubation de plusieurs semaines.

L'utilisation de systèmes de cultures sur milieux liquides réduit le temps de détection par rapport aux cultures sur milieu solide [5]. Un autre atout des cultures en milieu liquide est de permettre de tester plus rapidement la sensibilité aux antituberculeux [6, 7].

MODS est une technique récemment développée dans les pays à faible ressources financières ; son principe consiste en la détection de la résistance aux antituberculeux basée sur l'observation microscopique de la croissance des mycobacterium tuberculosis sous forme de « cordes » dans un milieu liquide en présence de l'isoniazide ou de la rifampicine [8]. L'avantage de cette méthode est sa rapidité et son très faible coût.

La biologie moléculaire à partir de cultures de mycobactéries n'est pas seulement utilisée pour la détection des gènes de résistances mais aussi pour identifier les différentes espèces de mycobactéries. Le test X pert MTB /RIF est une technique de PCR en temps réel, très prometteuse puisqu'elle en plus d' établir la présence de mycobacterium tuberculosis elle permet la recherche de mutation du gène rpoB traduisant la résistance à la Rifampicine [9].

Le test genotype MDR destiné à la détection des mutations associées à la résistance à de nombreux antituberculeux, l'OMS a recommandé l'utilisation de ce test pour la détection rapide de souches multi résistantes dans les échantillons des patients microscopiquement positifs [9].

Des travaux récents se sont intéressés à améliorer le diagnostic de la tuberculose latente grâce aux tests in vitro à l'interféron et même des bio marqueurs pour distinguer entre tuberculose latente et tuberculose active.

Les tests IGRA (interferon gamma release assay) sont des tests d'exploration in vitro de l'immunité cellulaire. Ces tests mesurent l'interféron gamma sérique produit par des lymphocytes T circulants en réponse à des antigènes spécifiques de M. tuberculosis.

Deux tests sont commercialisés le test Quantiferon - TB et le T-Spot-TB. Ces tests sont au moins aussi sensibles que le test cutané tuberculinique, mais ils ne permettent pas de distinguer une infection tuberculeuse latente d'une tuberculose active, ni d'exclure une tuberculose. Cependant ils ont l'avantage d'une spécificité accrue par rapport au test cutané tuberculinique. Quant aux biomarqueurs deux ont montré leur utilité pour le diagnostic de la tuberculose l'un pour la recherche de tuberculose directement chez le patient (le lipoarabinomannane), l'autre pour l'identification rapide des mycobactéries du complexe MTB dés la positivité de la culture (Ag MPT-64) [9].

TRAITEMENT

Concernant le traitement un régime très prometteur est actuellement recommandé aux USA (Rifapentine-Isoniazide une fois par semaine pendant 3 mois), à la suite d'une étude multicentrique sur approximativement 8 000 patients qui a démontré qu'il est plus efficace que l'INH seul pendant 9 mois, mieux suivi et bien toléré [10].

Par ailleurs le régime de retraitement par SRHZE a fait l'objet d'étude critique avec l'apport de consultants de l'OMS en Géorgie et vu le taux important d'échec et de constitution de tuberculose multi résistante MDR (10% chez les nouveaux cas, 30% chez les cas déjà traités), il a été décidé de l'abandonner [11].

L'apparition de ces souches résistantes rend urgente la découverte de nouveaux traitements antituberculeux en se focalisant si possible sur des voies pouvant amener vers des composés rendant l'émergence de résistances plus difficile.

De nouveaux médicaments sont actuellement testés (phases I, II, III)) et les plus prometteurs sont le linozélide, les rifamycines à forte dose, les quinolones, le TMC 20, PA824 et le SQ109.

Les fluoroquinolones notamment la Moxifloxacine (MXF) et Gatifloxacine (GXF), ces deux molécules montrent une meilleure activité in vitro que les « vieilles » fluoroquinolones (Ofloxacine et la Ciprofloxacine), une bonne tolérance sur le long terme et des paramètres pharmacocinétiques favorables. Elles sont en phase III des essais cliniques [12].

Les oxazolidinones représentés par le Linezolide (LZD) et PNU-100480. Le LZD a de bonnes propriétés pharmacocinétiques mais a 75% d'effets secondaires. Son utilisation est envisagée dans le traitement des tuberculoses multi-résistantes. Le PNU-100480 dérive du LZD et montre une meilleure activité in vitro contre M. tuberculosis [13].

Les rifamycines sont représentés par la Rifapentine (RFP), Rifalazil (RFL), Rifabutine (RFB). La RFP est la molécule la plus intéressante, elle possède une demi-vie plus longue que la Rifampicine, ce qui permettrait de raccourcir le traitement. Son utilisation est envisagée en combinaison avec la Moxifloxacine.

Les diarylquinolines représentent une nouvelle famille d'antibiotiques qui inhibent l'ATP synthase source d'énergie de la bactérie. La molécule la plus active est le TMC-207 qui a une CMI sur M. tuberculosis basse. Du fait de son mécanisme d'action nouveau, il n'y a pas de résistance croisée avec les autres antituberculeux et l'antibiotique conserve toute son activité sur les souches multi- ou ultra résistantes [14].

Une étude récente montre également que le TMC207 tue efficacement les bacilles dormants [15] de ce fait elle peut être la molécule idéale pour éradiquer le bacille en état de latence au sein du granulome.

Les nitroimidazolés sont représentés par le PA-824 et OPC-67683. Le PA-824 est un pro-médicament qui est activé par une bio réduction catalysée par l' association du cofacteur F420 et d'une protéine spécifique de M. tuberculosis Rv3547.

Il inhibe la synthèse des acides mycoliques de la paroi bactérienne [16, 17]. Il est actif contre les populations aérobies et anaérobies de M. tuberculosis, ce qui devrait le rendre efficace contre la tuberculose latente. Il ne possède pas d'effets secondaires et a des paramètres pharmacocinétiques intéressants. Son utilisation est envisagée dans les thérapies sans Rifampicine, notamment anti-VIH.

L'OPC-67683 semble être 10 à 20 fois plus actif que le PA-824 et a un potentiel bactéricide intéressant à basse concentration. Il est également actif contre les formes latentes du bacille [18].

Un régime à base de PZA, moxifloxacine et PA824 pendant 4 mois ayant démontré son efficacité dans le cas de tuberculose à BK sensibles va bientôt être testé avec d'autres médicaments dans la tuberculose à BK résistants [19].

Le SQ 19 fait partie des familles des diamines qui sont dérivés de l'Ethambutol, est un inhibiteur de

la synthèse de la paroi cellulaire de la mycobactérie. In vivo et en in vitro le SQ19 est plus efficace que l'Ethambutol et à 4 fois la CMI, autant que l' isoniazide [20]. Il est doté d'un pouvoir bactéricide rapide, et grâce à sa lipohilie qui lui assure une bonne diffusion cellulaire, sa longue demie vie sont encourageants pour espérer de raccourcie la durée du traitement.

IMMUNOTHERAPIE DE LA TUBERCULOSE

Ce domaine connait un regain d'intérêt avec la croissance des cas de tuberculose multi résistante. Le but de l'immunothérapie est de rétablir les défenses immunitaires. Deux types d'agents sont utilisés en immunothérapie: soit des agents qui permettent de rétablir l'activité des lymphocytes TH1 et des macrophages avec ou sans réduction l'activité TH2, et les autres agents qui facilitent l'accès ou l'activité des médicaments antituberculeux.

Des travaux intéressants ont été publiés sur l'immunothérapie. Pour les agents restaurant l'immunité protectrice nous citons essentiellement les essais thérapeutiques avec IL2 recombinant, GM-CSF recombinant humain [21, 22]. Zhang et col. ont montré dans leur essai l'efficacité de l'immunothérapie par l'association de ces deux cytokines dans le traitement de la tuberculose multi résistante chez la souris [23].

L'inhibition du TGFb1, de IL4 représentent d'autres voies exploitées par l'immunothérapie [24, 25]. Deux essais évaluant l'interféron-gamma administré par voie inhalée chez un faible nombre de patients suggèrent un effet qui n'a pas été confirmé à ce jour [26, 27].

Le Mycobacterium vaccae est une mycobactérie saprophyte contenant le mycobaterial Hsp 65 et plusieurs antigènes ayant des réactions croisées avec des antigènes du Mycobacterium tuberculosis, la vaccination par le M. vaccae provoque une augmentation d'activité TH1 chez l'animal [28]. Mycobactérium w est une mycobactérie saprophyte possédant plusieurs antigènes communs avec ceux du Mycobacterium tuberculosis, il a été montré son action immunomodulatrice chez les patients lépromateux, plusieurs essais cliniques ont montrés son effet bénéfique dans la tuberculose [29, 30].

TNF α joue un rôle pivot dans la réponse immunitaire contre la tuberculose étant donné son implication dans les phénomènes inflammatoires et immunitaires. Il participe à la formation et au maintien du granulome en stimulant la prolifération fibroblastique. Une autre approche thérapeutique a été de diminuer l'excès de la réaction inflammatoire liée à la production de TNFα.

Un essai avec la Thalidomide suggère un bénéfice [31]. Enfin, l'Etanercept a été testé chez les sujets séropositifs pour le VIH et infectés par la tuberculose avec un bénéfice modeste, mais significatif [32].

LA VACCINATION

Le vaccin utilisé encore aujourd'hui dans la prévention contre la tuberculose a été mis au point au début du 20ème siècle par Calmette et Guérin à partir d' une souche virulente *de* M. bovis, agent pathogène du bovin et de l'homme. Quoique l'efficacité du vaccin BCG contre la tuberculose, notamment chez les enfants contre les formes graves et disséminées est prouvée, la protection contre la tuberculose pulmonaire chez les adultes, ainsi que dans les pays à haute incidence de tuberculose est limitée. De nombreux travaux réalisés de par le monde ont mis on évidence des efficacités très variables allant de 0 à 90% [33].

Le manque de protection chez les adultes s'expliquerait par le fait que l'effet du vaccin est limité dans le temps. L'inefficacité du vaccin chez les adultes et dans les régions du monde où la population est exposée quotidiennement à des espèces mycobactériennes vivant dans l'environnement nécessite le développement de nouveaux vaccins, que ce soit en remplacement ou en plus du vaccin BCG actuel.

Aujourd'hui, 12 candidats vaccins sont entrés dans les phases des essais cliniques dont Trois sont des candidats vaccins vivants destinés à remplacer BCG [34]. Il s'agit de souches recombinantes de BCG, exprimant des gènes codant pour des antigènes mycobactériens, Ag85A, Ag85B, Rv3407 [35]. Un vaccin AERAS-402 a été testé en Afrique du Sud chez des patients avec tuberculose latente pour éviter le passage à la tuberculose maladie [36].

Les vaccins thérapeutiques sont des vaccins « booster » d'immunité permettant d'améliorer la réponse à la chimiothérapie et réduire la durée de traitement. Deux vaccins thérapeutiques le premier est Mycobacterium vaccae constitué par des mycobactéries non tuberculeuses inactivées et le second vaccin est RUTI: il s'agit de fragments cellulaires de mycobacterium tuberculosis cultivé en condition mimant celles du Granulome et sont délivrés dans les liposomes [37].

CONCLUSION

L'horizon s'éclaircit et ces progrès seront bientôt mis en application pour améliorer le diagnostic (rapidité et fiabilité) et raccourcir le traitement de la tuberculose.

CONFLIT D'INTERÊTS

Aucun.

REFERENCES

1. Multidrug and extensively drug-resistant TB,(M/XDR-TB).2010 Global Report On surveillance and Response. WHO/TB/2010.3
2. Giridhara RB, Ramanan L. The unsurprising story of MDR-TB resistance in India. Tuberculosis2012;92:301-6.
3. Loewenberg S. India reports cases of totally drug-resistant tuberculosis. *The Lance* 2012; 379 (9812):205.
4. Minion J, Sohn H, Pai M. Light-emitting diode technologies for TB diagnosis: what is on the market? *Expert Rev Med Devices* 2009; 6: 341-5.
5. Drobniewski FA, Caws M, Gibson. Modern laboratory diagnosis of tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2003;3: 141-7.
6. Bergmann JS, Fish G, Woods GL. Evaluation of the BBL MGIT(Mycobacterial growth indicator tube) AST SIRE system for antimycobacterial susceptibility testing of mycobacteriumtuberculosisto4primary antituberculous drugs. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 82-6.
7. Brady M, Coronel J, Gilman R, et al. The MODS method for diagnosis of tuberculosis and multi-drug resistant tuberculosis. *J Vis Exp* 2008; 11: 845.
8. Zimic M, Velazco A, Comina G, et al. Development of low-cost inverted microscope to detect early growth of Mycobacterium tuberculosis in MODS culture. PLOS One 2010; 5: e 9577.
9. Ninet B, Roux-Lombard P, Schrenzel J, Janssens JP. Nouveaux tests pour le diagnostic de la tuberculose. *Rev Mal Resp* 2011; (08): 823-33.
10. CDC. Recommendations for use of an isoniazid - rifapentine regimen with direct observation to treat latent Mycobacterium tuberculosis infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep 20*11; 60 (48):1650-3.
11. Furin J, Gegia M, Mitnick C, Rich M, Shin S, Becerra M et al. Eliminating the category II retreatment regimen from national tuberculosis programme guidelines: the Georgian experience. *Bull World Health Organ* 2012; 90 (1):63-6.
12. Marrigot-Outtandy D, Perronne C. Les nouveaux antituberculeux. *Réanimation* 2009; 18: 334-42.
13. Williams KN.Promising antituberculosis activity o the oxazolidione PNU-100480 relative to linezolid in the murine model. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 53: 1314 -19.
14. Lounis N, Guillemont J, Veziris N, Koul A, Jarlier V, Andries K. R207910 (TMC207):un nouvel antibiotique pour le traitement de la tuberculose. *Médecine des Maladies Infectieuses* 2010 ; 40 :383-90.
15. Koul A, Vranckx L, Dendouga N, Balemans W, Van den Wyngaert I, Vergauwen K, et al. Diarylquinolines are bactericidal for dormant mycobacteria as a result of disturbed ATP homeostasis. *J Biol Chem* 2008; 283: 25273-80.
16. Laughon BE. New tuberculosis drugs in development. *Curr Top Med Chem* 2007; 7: 463-73.
17. Janin YL. Anti tuberculosis drugs: ten years of research. *Bioorg Med Chem* 2007; 15: 2479-513.
18. Zhang Y. Advances in the treatment of tuberculosis. *Clin Pharmacol Ther* 2007;82: 597- 605.
19. Nuermberger E, Tyagi S, Tasneen R, et al. Powerful bactericidal and sterilizing activity of a regimen containing PA-824, moxifloxacin, and pyrazinamide in a murine model of tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(4):1522-4.
20. Jia L. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of SQ19, a new diamine-based antitubercular drug. *Br J Pharmacol* 2005; 144: 80-7.
21. Johnson JL, Sekasanvu E, Okwera A, Mayanja H, Hirsch CS, Naki-bali JG et al: Randomized trial of adjunctive interleukin-2 in adults with pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 185-91.
22. Pedral-Sampaio DB, Netto EM, Brites C, Bandeira AC, Guerra C, Bar-berin MG et al: Use of rhu-GM-CSF in pulmonary tuberculosis patients: Results of a randomized clinical trial. *Braz J Infect Dis* 2003; 7: 245-52.
23. Zhang Y, Liu J, Wang Y, Xian Q, Shao L, Yang Z et al. Immunotherapy using IL-2 and GM-CSF is a potential treatment for multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis. *Sci China Life Sci* 2012; 55(9):800-6.
24. Rosas-Taraco AG, Higgins DM, Sanchez-campillo J, Lee EJ, Orme IA, Gonzales-Juarrero M. Local pulmonary immunotherapy with si RNA targeting TGFb1 enhances antimicrobial capacity in Mycobacterium tuberculosis infected mice. *Tuberculosis* 2011; 91: 98-106.
25. Roy E, Brennan J, Jolles S, Lowrie DB. Beneficial effect of anti-interleukin 4 antibody when administered in a murine model of tuberculosis infection. *Tuberculosis* 2008; 8: 197-202.
26. Condos R, Rom WN, Schluger NW. Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon -gamma via aerosol. *Lancet* 1997; 349: 1513-5.
27. Suarez-Mendez R, Garcia-Garcia I, Fernandez-Olivera N, Valdes-Quintana M, Milanes-Virelles MT, Carbonell D, Machado-Molina D, Valenzuela-Silva CM, Lopez-Saura PA. Adjuvant interferon gamma in patients with drug - resistant pulmonary tuberculosis: A pilot study. BMC *Infect Dis* 2004; 4: 44.
28. Xu LJ, Wang YY, Zheng XD, Gui XD, Tao LF, Wei HM. Immunotherapeutic potential of Mycobacterium vaccae on M. tuberculosis infection in mice. *Cell Mol Immunol* 2009; 6(1):67-72.
29. Nyasulu PS. The role of adjunctive Mycobacterium w immunotherapy for tuberculosis. *J Exp Clin Med* 2010; 2 (3):124-29.
30. Faujdar J, Gupta P, Natrajan M, Das R, Chauhan DS, Katoch VM. Mycobacterium indicus pranii as stand alone or adjunct immunotherapeutic in treatment of experimental tuberculosis. *Indian J Med Res* 2011; 134: 696-703.

31. Bekker LG, Haslett P, Maartens G, Steyn L, Kaplan G. Thalidomide- induced antigen-specific immune stimulation in patients with human immunodeficiency virus type 1 and tuberculosis. *J Infect Dis* 2000; 181: 954-65.
32. Wallis RS, Kyambadde P, Johnson JL, Horter L, Kittle R, Pohle M et al . A study of the safety, immunology, virology, and microbiology of adjunctive etanercept in HIV-1-associated tuberculosis. *Aids* 2004; 18: 257-64.
33. Colditz GA, Brewer TF, Berkey CS, et al. Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis. Meta-analysis of the published literature. *JAMA* 1994; 271: 698-702.
34. Kaufmann SH. Fact and fiction in tuberculosis vaccine research: 10 years later. *Lancet Infect Dis* 2011; 11:633-40.
35. Tullius MV, Harth G, Maslesa-Galic S, Dillon BJ, Horwitz M A. A Replication-Limited Recombinant Mycobacterium bovis BCG vaccine against tuberculosis designed for human immunodeficiency virus-positive persons is safer and more efficacious than BCG. *Infect Immun* 2008; 76: 5200-14.
36. Abel B, Tameris M, Mansoor N, Gelderbloem S, Hughes J, Abrahams D et al.: AERAS- 402 Induces Robust T- cell Immunity in Adults. Am J Respir Crit Care Med 2010; Vol 181:1407-1417.
37. Cardona PJ.RUTI: a new chance to shorten the treatment of latent tuberculosis infection. Tuberculosis 2006; 86: 273-289.