

Ensayos de crecimiento de micobacterias en sangre total para evaluar la susceptibilidad a la tuberculosis humana: revisión sistemática y metanálisis

Jeroen Bok 1, 2, 3, 4, Regina Hoffand 4, Carlton A. Evans 1, 2, 3 *

1 Imperial College London, Reino Unido, 2 Universidad Peruana Cayetano Heredia, Perú, 3 Asociación Benéfica PRISMA, Perú, 4 University Medical Center Utrecht, Países Bajos

Enviado al diario:

Fronteras en inmunología

Sección de especialidades:

Inmunología microbiana

Tipo de artículo:

Artículo de revisión sistemática

ID del manuscrito:

641022

Recibido el:

13 dic 2020

Revisado en:

24 febrero 2021

Enlace al sitio web de la revista:

www.frontiersin.org

En revisión

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un posible conflicto de intereses.

Declaración de contribución del autor

Todos los autores participaron en la investigación y preparación del manuscrito, y todos han revisado y aprobado el manuscrito tal como se envió. JB, RH y CE contribuyeron a la concepción del estudio; JB y CE buscaron los datos; JB y CE extrajeron los datos; JB analizó los datos; JB, RH y CE interpretaron los datos; y JB, RH y CE prepararon el manuscrito.

Palabras clave

Tuberculosis, Ensayo de crecimiento de micobacterias, Ensayo de inhibición del crecimiento de micobacterias, MGIA, Susceptibilidad, riesgo

Resumen

El recuento de palabras: 239

Fondo.

Los ensayos de crecimiento de micobacterias en sangre total (WBMGA) cuantifican el crecimiento de micobacterias en muestras de sangre fresca y pueden tener potencial para evaluar las vacunas contra la tuberculosis e identificar a las personas en riesgo de tuberculosis. Evaluamos la evidencia para la suposición subyacente de que los resultados de WBMGA in vitro pueden predecir la susceptibilidad a la tuberculosis in vivo.

Métodos.

Se realizó una búsqueda sistemática de estudios que evaluaran asociaciones entre los resultados de WBMGA y la susceptibilidad a la tuberculosis. Se realizaron metanálisis para los estudios elegibles mediante el cálculo de promedios ponderados por población.

Resultados.

Ningún estudio evaluó directamente si los resultados de WBMGA predijeron la susceptibilidad a la tuberculosis. 15 estudios evaluaron las asociaciones entre los resultados de WBMGA y los correlatos comprobados de la susceptibilidad a la tuberculosis, que dividimos en dos categorías. En primer lugar, las asociaciones de WBMGA con factores que se sabe que reducen la susceptibilidad a la tuberculosis fueron estadísticamente significativas en los 8 estudios de: vacunación con BCG; suplementación con vitamina D; altitud; y terapia / negatividad para el VIH. En segundo lugar, las asociaciones de WBMGA con correlatos probables de susceptibilidad a la tuberculosis fueron estadísticamente significativas en 3 estudios de enfermedad tuberculosa, en un estudio de parasitismo y en 2 de los 5 estudios de infección tuberculosa latente. Los metanálisis para las asociaciones entre los resultados de WBMGA y la vacunación con BCG, la infección por tuberculosis, la enfermedad de la tuberculosis y la infección por VIH revelaron efectos consistentes.

Conclusiones.

Los resultados del estudio generalmente mostraron asociaciones significativas entre los resultados de WBMGA y los correlatos de la susceptibilidad a la tuberculosis. Sin embargo, ningún estudio evaluó directamente si los resultados de WBMGA predijeron la susceptibilidad real a la infección o enfermedad tuberculosa. Recomendamos la optimización y estandarización de la metodología WBMGA y los estudios prospectivos para determinar si WBMGA predice la susceptibilidad a la enfermedad de tuberculosis.

Contribución al campo

Existen múltiples estudios diversos en este campo con metodologías y hallazgos muy variados. Aún no existe un consenso de expertos sobre el valor de estos ensayos. Consideramos que se necesitaba con urgencia una revisión sistemática y un metanálisis. Creemos que

Nuestros hallazgos hacen una contribución valiosa a la lucha mundial para eliminar la tuberculosis y esperamos que los comparta con sus lectores. En su revista se han publicado varias publicaciones clave en este campo, por lo que creemos que Frontiers in Immunology sería el mejor lugar para publicar nuestra revisión sistemática y metanálisis de ensayos de crecimiento de micobacterias en sangre total para evaluar la susceptibilidad a la tuberculosis humana.

Declaración de financiación

Se agradece la financiación de: Wellcome Trust (premios 057434 / Z / 99 / Z, 070005 / Z / 02 / Z, 078340 / Z / 05 / Z, 105788 / Z / 14 / Z y 201251 / Z / 16 / Z); DFID-CSCF; el consorcio Joint Global Health Trials (premio MR / K007467 / 1 de MRC, DFID y Wellcome Trust); la iniciativa TB REACH de STOP TB, financiada por el Gobierno de Canadá y la Fundación Bill y Melinda Gates (premios W5_PER_CDT1_PRISMA y OPP1118545); y la organización benéfica IFHAD: Innovación para la salud y el desarrollo

Declaración de disponibilidad de datos

Declaración generada: Las contribuciones originales presentadas en el estudio se incluyen en el artículo / material complementario, las consultas adicionales pueden dirigirse a los autores correspondientes.

En revisión

Ensayos de crecimiento de micobacterias en sangre total para evaluar la susceptibilidad a la tuberculosis humana:
una revisión sistemática y un metanálisis

1 **Autores:** Jeroen Bok ^{1,2,3,4}, Regina Hofland ⁴, Carlton A. Evans ^{1,2,3,*}

2

3 **Afiliaciones de autor:**

4 1) Departamento de Enfermedades Infecciosas, Imperial College London, Reino Unido

5 2) IFHAD: Innovación para la Salud y el Desarrollo, Laboratorio de Investigación y Desarrollo, Universidad Peruana Cayetano Heredia,

6 Lima, Perú

7 3) IPSYD: Innovación Por la Salud Y el Desarrollo, Asociación Benéfica PRISMA, Lima, Perú

8 4) Departamento de Neumología y Tuberculosis, Centro Médico Universitario de Utrecht, Utrecht, Países Bajos

9

10

11 *** Correspondencia:**

12 Prof. Carlton A. Evans, Departamento de Enfermedades Infecciosas, Imperial College London Hammersmith Hospital Campus, Commonwealth

13 Building, 150 Du Cane Road, Londres W12 0NN, Reino Unido. +44 383 3222; Carlton.Evans@IFHAD.org

14

15

dieciséis **Palabras clave:** Tuberculosis, Ensayo de crecimiento de micobacterias, Ensayo de inhibición del crecimiento de micobacterias, MGIA, Susceptibilidad,

17 Riesgo

En revisión

18 [Resumen](#)

19 **Fondo.**

20 Los ensayos de crecimiento de micobacterias en sangre total (WBMGA) cuantifican el crecimiento de micobacterias en muestras de sangre fresca y pueden tener
21 potencial para evaluar las vacunas contra la tuberculosis e identificar a las personas con riesgo de tuberculosis. Evaluamos la evidencia para la suposición subyacente
22 de que los resultados de WBMGA in vitro pueden predecir la susceptibilidad a la tuberculosis in vivo.

23

24

25 **Métodos.**

26 Se realizó una búsqueda sistemática de estudios que evaluaran asociaciones entre los resultados de WBMGA y la susceptibilidad a la tuberculosis. Se realizaron
27 metanálisis para los estudios elegibles mediante el cálculo de promedios ponderados por población.

28

29 **Resultados.**

30 Ningún estudio evaluó directamente si los resultados de WBMGA predijeron la susceptibilidad a la tuberculosis. 15 estudios evaluaron las asociaciones entre los
31 resultados de WBMGA y los correlatos comprobados de la susceptibilidad a la tuberculosis, que dividimos en dos categorías. En primer lugar, las asociaciones de
32 WBMGA con factores que se cree que reducen la susceptibilidad a la tuberculosis fueron estadísticamente significativas en los ocho estudios de: vacunación con
33 BCG; suplementación con vitamina D; altitud; y terapia / negatividad del VIH. En segundo lugar, las asociaciones de WBMGA con correlatos probables de
34 susceptibilidad a la tuberculosis fueron estadísticamente significativas en tres estudios de enfermedad tuberculosa, en un estudio de parasitismo y en dos de los
35 cinco estudios de infección tuberculosa latente. Metanálisis para las asociaciones entre los resultados de WBMGA y la vacunación con BCG, infección por
36 tuberculosis, la tuberculosis y la infección por VIH revelaron efectos constantes, hubo una considerable heterogeneidad metodológica.

37

38

39

40 **Conclusiones.**

41 Los resultados del estudio generalmente mostraron asociaciones significativas entre los resultados de WBMGA y los correlatos de la susceptibilidad a la
42 tuberculosis. Sin embargo, ningún estudio evaluó directamente si los resultados de WBMGA predijeron la susceptibilidad real a la infección o enfermedad
43 tuberculosa. Recomendamos la optimización y estandarización de la metodología WBMGA y los estudios prospectivos para determinar si WBMGA predice la
44 susceptibilidad a la enfermedad de tuberculosis.

45

46 **Introducción**

47

48 Se estima que la tuberculosis (TB) enferma a más de diez millones de personas y mata a 1,4 millones de personas cada año en todo el mundo [1]. Se cree que una cuarta
49 parte de la población mundial tiene una infección tuberculosa latente (ITBL), en > 90% de los cuales se espera que la inmunidad antimicrobiana prevenga
50 indefinidamente la progresión a la enfermedad tuberculosa. Se han identificado varios factores de riesgo para la progresión de la exposición a la ITBL a la enfermedad de
51 tuberculosis activa [2], pero faltan predictores fiables [3]. La estratificación del riesgo, la evaluación de las vacunas y otras intervenciones encaminadas a reducir la
52 susceptibilidad a la tuberculosis se complican por el retraso variable y, a menudo, largo de una infección a otra y por la dificultad para determinar la exposición, la infección
53 y la enfermedad a la tuberculosis [4] [5]. En consecuencia, existe una necesidad urgente de ensayos in vitro para predecir la susceptibilidad a la tuberculosis in vivo.

54

55

56

57 Los ensayos de crecimiento de micobacterias en sangre total (WBMGA) tienen como objetivo medir el crecimiento in vitro de micobacterias en muestras de sangre fresca.
58 Son ensayos funcionales que, en lugar de centrarse en un único marcador inmunitario, evalúan los efectos combinados de una serie de factores, como los mecanismos
59 inmunitarios que influyen en el crecimiento de las micobacterias in vitro. WBMGA ha ganado interés por las pruebas de vacunas contra la tuberculosis, donde los ensayos
60 previos y posteriores a la vacunación pueden proporcionar información sobre la eficacia de las vacunas candidatas, prediciendo las personas con riesgo de enfermedad
61 de tuberculosis [6] [7]. La suposición subyacente es que si in vitro la sangre de un individuo permite un mayor crecimiento de micobacterias, entonces este hallazgo
62 predice que el individuo correrá un mayor riesgo de desarrollar una infección o enfermedad de tuberculosis, es decir, susceptibilidad a la tuberculosis in vivo.

63

64

sesenta y cinco

66 Además de WBMGA, se han desarrollado y evaluado ensayos de crecimiento de micobacterias utilizando células mononucleares de sangre periférica
67 purificadas (PBMC), macrófagos purificados y células de lavado broncoalveolar [8]. En la revisión sistemática actual, nos centramos en WBMGA debido a
68 varias ventajas que ofrece en comparación con el ensayo de crecimiento de micobacterias basado en PBMC: (1) la simplicidad de WBMGA aumenta la
69 viabilidad en los entornos con recursos limitados donde ocurre la mayoría de la TB [9]; (2) los análisis de sangre completa reducen los efectos artificiales de
70 los procedimientos de aislamiento celular; y (3) el WBMGA es el enfoque in vitro que parece representar mejor las complejidades de las respuestas in vivo,
71 incluido el papel de la hemoglobina, los granulocitos neutrófilos, los anticuerpos y el complemento, lo que puede explicar el desacuerdo en los resultados
72 entre el WBMGA y los ensayos equivalentes que utilizan purificados PBMC [10] [11].

73

74

75 Se han utilizado dos tipos de dominio de WBMGA. En primer lugar, en el ensayo BCG lux, se inoculan micobacterias luminiscentes recombinantes (BCG
76 lux) en sangre completa diluida y se calcula la tasa de crecimiento de las micobacterias midiendo la luz emitida en el momento de la inoculación frente a
77 después de la incubación [12]. En segundo lugar, en el ensayo del tubo de inhibición del crecimiento de micobacterias (MGIT) [13], las micobacterias se
78 cultivan en sangre completa diluida, después de lo cual las micobacterias se aíslan y se inoculan en tubos de cultivo MGIT de BACTEC (Becton y
79 Dickinson, Sparks, EE. UU. detección de micobacterias, indicativo de crecimiento de micobacterias. WBMGA ha utilizado diferentes suplementos sanguíneos;
80 infección con varios *M. tuberculosis* cepas y BCG tanto de tipo salvaje como genéticamente modificado; incubación durante 72-96 horas; y diversas
81 medidas de resultado (por ejemplo, tiempo de micobacterias para cultivar positividad y bioluminiscencia de micobacterias que indica metabolismo).

82

83

84
85 La premisa central de un WBMGA útil es que el crecimiento de micobacterias medido in vitro predice el riesgo in vivo de desarrollar una infección de tuberculosis o una
86 enfermedad de tuberculosis activa. Recientemente, se revisaron los detalles técnicos de diversos WBMGA (y ensayos de crecimiento de micobacterias basados en
87 células mononucleares de sangre periférica) [8]. Nuestra revisión actual tiene como objetivo ampliar estos hallazgos para determinar qué, si existe alguna evidencia, de
88 que los resultados de WBMGA humanos in vitro predicen el riesgo de TB in vivo. Nuestro objetivo era incluir todo tipo de participantes humanos, intervenciones,
89 comparaciones, resultados y diseños de estudio (PICOS) con relevancia para nuestro objetivo [14].
90

En revisión

91 Métodos

92 Estrategia de búsqueda y criterios de selección

93 Esta revisión siguió a la declaración PRISMA para informar revisiones sistemáticas y metanálisis [14]. Se realizaron búsquedas en PubMed y EMBASE hasta 25^o Junio
94 de 2020. Se realizaron búsquedas en las referencias citadas por estas publicaciones y revisiones. Los criterios de inclusión fueron: publicaciones en inglés revisadas por
95 pares que describieran estudios transversales, de casos y controles o de cohortes utilizando WBMGA para estudiar el crecimiento de micobacterias en la sangre humana
96 en relación con el riesgo de infección por tuberculosis; riesgo de enfermedad de tuberculosis; factores de riesgo de tuberculosis establecidos o posibles

97

98

99 JB y CAE revisaron títulos de publicaciones potencialmente relevantes, luego resúmenes y finalmente publicaciones de texto completo para determinar su elegibilidad

100 (Figura 1). La calidad de los estudios incluidos fue evaluada por JB y RH utilizando una herramienta de evaluación de la calidad del Instituto Nacional del Corazón, los

101 Pulmones y la Sangre (NHLBI), lo que dio lugar a una calificación general de la calidad de cada estudio de "buena", "regular", o "pobre" [15]. Aunque se obtuvo para

102 estudios observacionales y de cohortes a mayor escala, esta herramienta de evaluación de la calidad pareció ser la mejor opción disponible considerando nuestros

103 criterios de inclusión. Las discrepancias se resolvieron mediante discusión.

104

105

106 Análisis de datos y síntesis de hallazgos.

107 Los resultados de WBMGA, las características del estudio y la metodología se extrajeron de cada publicación y se categorizaron por factores que se sabe que disminuyen
108 o que pueden afectar la susceptibilidad a la tuberculosis por JB y CE. Los resultados de WBMGA se extrajeron tal como se publicaron, independientemente del cálculo o
109 las diferencias metodológicas.

110

111 Para permitir la comparación y síntesis de los resultados de WBMGA entre diferentes estudios, se calcularon las proporciones de un grupo de estudio (por ejemplo, antes
112 de la vacunación) frente al otro (por ejemplo, después de la vacunación) para cada uno de los principales hallazgos de las publicaciones, generando un crecimiento
113 relativo de micobacterias. ratios que se presentan en las figuras 2A-E.

114

115 Cuando se utilizaron simultáneamente diferentes metodologías WBMGA para evaluar a un paciente, se evaluó el nivel de acuerdo entre las
116 metodologías con diagramas de dispersión y coeficientes de correlación de Pearson.

117

118 Metaanálisis

119 Debido a la heterogeneidad en los métodos estadísticos y la falta de disponibilidad de datos a nivel de participante, las desviaciones / errores estándar no se
120 pudieron estimar de manera confiable para cada una de las proporciones relativas de crecimiento de micobacterias que se calcularon. En consecuencia, las
121 técnicas de metaanálisis utilizadas con frecuencia que incorporan las variaciones del estudio fueron imposibles. En cambio, para estudios comparables,
122 informamos promedios de las proporciones relativas de crecimiento de micobacterias que calculamos ponderadas según el número de participantes en cada
123 estudio (ver Suplemento). Los errores estándar de estos promedios ponderados indican la variación entre los estudios individuales y no pudieron evaluar la
124 variación dentro de cada estudio. Estos cálculos utilizaron el paquete R "Hmisc" [16].

125

126

127 La heterogeneidad se evaluó visualmente con un histograma que muestra el registro de proporciones relativas de crecimiento de micobacterias en estudios individuales, lo
128 que indica un posible sesgo de publicación. Debido a que la varianza de cada micobacteriana relativa

129 se desconocía la proporción de crecimiento, no se pudo realizar un gráfico en embudo convencional. Por lo tanto, generamos lo que
130 denominado un diagrama de pseudo-embudo del registro 10 de las medias ponderadas de las proporciones relativas de crecimiento de micobacterias representadas
131 gráficamente frente a sus errores estándar, lo que indica un posible sesgo de publicación en las medias ponderadas que calculamos.
132
133

En revisión

134 [Resultados](#)

135 [Resultados de la búsqueda](#)

136 No se encontraron estudios prospectivos que compararan directamente los resultados de WBMGA con el riesgo de infección o enfermedad de tuberculosis. Por lo tanto,
137 esta revisión se limita a la evidencia indirecta de estudios que prueban las asociaciones entre los resultados de WBMGA y los factores que se cree que afectan la
138 susceptibilidad a la tuberculosis. Se incluyeron quince artículos que cumplían con estos criterios (figura 1). Se hizo una distinción entre: (A) factores con consenso en que
139 disminuyen la susceptibilidad a la tuberculosis [17] [18] [19] [20]; y (B) factores que probablemente afecten la susceptibilidad a la tuberculosis pero que carecen de
140 consenso sobre si aumentarían o reducirían la susceptibilidad [21] [22].

141

142

143 [A. Factores que disminuyen la susceptibilidad a la tuberculosis](#)

144 La Tabla 1A muestra los resultados del estudio agrupados según los siguientes factores que se cree que disminuyen la susceptibilidad a la tuberculosis: vacunación
145 con BCG; vitamina D; altitud; y terapia / negatividad del VIH, todos los cuales se resumen a continuación.

146

147

148 [Vacunación BCG \(Figura 2A\)](#)

149 La vacuna BCG puede ofrecer una protección del 60-80% contra la tuberculosis infantil diseminada grave, mientras que la protección contra la tuberculosis pulmonar varió
150 considerablemente entre los estudios [18]. En la presente revisión, se identificaron tres estudios que compararon WBMGA antes y después de la vacunación con BCG. La
151 técnica BCG-lux demostró una disminución significativa del crecimiento de micobacterias ocho meses después de la vacunación secundaria con BCG (8 meses después de
152 la primaria) en adultos, pero no permitieron efectos significativos posteriormente [23]. Al mismo tiempo, se analizaron las mismas muestras de sangre (comunicación
153 personal con el Dr. Pieter Hoff) con la técnica MGIT, que mostró una disminución significativa del crecimiento de micobacterias solo seis meses después de la vacunación
154 secundaria con BCG (2 meses después de la primaria). Las diferencias en el crecimiento relativo de micobacterias en diferentes puntos de tiempo entre estos estudios
155 se ilustran en la Figura 3A, con una diferencia de más del doble en dos momentos. Se notificó una reducción significativa del crecimiento de micobacterias en adultos solo
156 después de la vacunación primaria de una cohorte de adultos sin BCG (aunque esto dependió del método estadístico), pero no hubo diferencias después de la vacunación
157 secundaria de una cohorte de adultos que habían sido vacunados más de seis meses antes de la inscripción [24]. En el mismo estudio no se encontraron diferencias en
158 el crecimiento de micobacterias entre los grupos previamente vacunados con BCG versus los no vacunados con BCG al inicio del estudio. También se notificó una
159 reducción del crecimiento de micobacterias después de la vacunación neonatal con BCG [25]. En la Figura 3B, se compara el crecimiento relativo de micobacterias en
160 diferentes puntos de tiempo después de la vacunación con BCG en todos los estudios incluidos. Se notificó una reducción significativa del crecimiento de micobacterias en
161 adultos solo después de la vacunación primaria de una cohorte de adultos sin BCG (aunque esto dependió del método estadístico), pero no hubo diferencias después de
162 la vacunación secundaria de una cohorte de adultos que habían sido vacunados más de seis meses antes de la inscripción [24]. En el mismo estudio no se encontraron
163 diferencias en el crecimiento de micobacterias entre los grupos previamente vacunados con BCG versus los no vacunados con BCG al inicio del estudio. También se notificó una reducción del creci-

164

165 [Vitamina D \(Figura 2B\)](#)

166 Los niveles séricos bajos de vitamina D se han asociado con un mayor riesgo de enfermedad de tuberculosis [19]. En el único estudio identificado que analizó la
167 vitamina D y WBMGA, en un ensayo controlado aleatorio, una dosis única de vitamina D redujo significativamente el crecimiento de micobacterias en comparación
168 con el placebo [26].

169

170 **Altitud (Figura 2B)**

171 La gran altitud se asocia con un menor riesgo de infección y enfermedad de tuberculosis [27] y se notificó una disminución del crecimiento de micobacterias en los
172 residentes de baja altitud después del ascenso a gran altitud, suficiente para que no haya diferencia entre los individuos recientemente ascendidos y los residentes
173 permanentes de gran altitud [9].

174

175 **Negatividad / terapia del VIH (Figura 2C)**

176 La infección por VIH es uno de los factores de riesgo más importantes para la progresión a la enfermedad de tuberculosis activa [17]. Se identificaron dos estudios que
177 investigaron el WBMGA en relación con la infección por VIH. Se informó un mayor crecimiento de micobacterias en los niños infectados por el VIH (sin terapia
178 antirretroviral de gran actividad, TARGA) en comparación con los niños no infectados por el VIH [28]. De manera similar, se informó de una disminución significativa en el
179 crecimiento de micobacterias después de iniciar TARGA en niños infectados por el VIH [29].

180

181

182 **B. Factores que probablemente afectan la susceptibilidad a la tuberculosis**

183 La Tabla 1B muestra los resultados del estudio agrupados según los siguientes factores que pueden afectar la susceptibilidad a la tuberculosis: infección por tuberculosis,
184 enfermedad de tuberculosis y parasitismo.

185

186 **Infección por tuberculosis (Figura 2D)**

187 Se identificaron cinco estudios que analizaron la asociación entre WBMGA y el estado de infección por TB, es decir, ausencia de infección indicada por resultados
188 negativos de la prueba cutánea de tuberculina (TST) o del ensayo de liberación de interferón- γ (IGRA) versus la infección por TB (TST positivo y / o IGRA). Tres
189 de estos estudios compararon poblaciones TST positivas con TST-negativas. Se informó un menor crecimiento de micobacterias en individuos con TST positivo
190 frente a TST negativo, aunque no se informó de significación estadística [28]. Se informó una disminución del crecimiento de micobacterias en adultos con TST
191 positivo frente a adultos con TST negativo [12]. No se encontraron diferencias significativas en el crecimiento de micobacterias al comparar los contactos adultos
192 con TST positivo frente a TST negativo de pacientes diagnosticados con TB pulmonar en un estudio diseñado para evaluar el papel de los neutrófilos en la
193 resistencia del huésped a la infección por micobacterias [10]. Otros dos estudios compararon poblaciones IGRA positivas e IGRA negativas. Uno no encontró
194 diferencias significativas en el crecimiento de micobacterias entre niños y adultos con IGRA positivo versus IGRA negativo en un entorno de alta carga de TB [30]; el
195 otro informó un crecimiento de micobacterias significativamente menor en individuos IGRA positivos en comparación con individuos IGRA negativos y un aumento
196 en el crecimiento de micobacterias después del tratamiento de individuos IGRA positivos [7].

197

198

199

200 **Enfermedad de tuberculosis (Figura 2E)**

201 Tres estudios informaron la asociación entre WBMGA y la enfermedad de TB. Los pacientes con enfermedad de tuberculosis mostraron el menor crecimiento
202 de micobacterias, seguidos de los individuos con IGRA positivo, con el mayor crecimiento de micobacterias en los individuos con IGRA negativo, aunque estas
203 asociaciones solo se observaron cuando las micobacterias utilizadas en el ensayo eran BCG, no *M. tuberculosis* [7]. El crecimiento de micobacterias en
204 pacientes curados de TB fue menor que en individuos sin TB en dos de los dos analizados *M. tuberculosis* cepas, pero no se observaron diferencias
205 significativas para un tercio *M. tuberculosis* cepa [31]. Niños con TST positivo con eritema nudoso, una condición que generalmente se atribuye

206

207 La infección por tuberculosis en el contexto de este estudio mostró un menor crecimiento de micobacterias en WBMGA que los niños con tuberculosis activa [32].

208

209

210 Parasitismo (Figura 2B)

211 La evidencia sobre la dirección de la asociación entre el parasitismo y el riesgo de infección por TB y la enfermedad de TB es contradictoria, es decir, el

212 parasitismo puede estar asociado con una disminución [33] [34] o potencialmente (directa o indirectamente a través de la desnutrición asociada) con una

213 mayor susceptibilidad a la TB [35] [36]. Se identificó un estudio que examinó la relación entre las infecciones por helmintos y el WBMGA, que mostró una

214 disminución del crecimiento de micobacterias en individuos con anquilostomiasis en comparación con los controles no infectados por anquilostomas, que se

215 resolvió después del tratamiento de la anquilostomiasis [34].

216

217

218 Ratios de crecimiento relativo de micobacterias y metanálisis

219 Las proporciones relativas de crecimiento de micobacterias de los estudios relacionados con la vacunación con BCG, la infección por TB, la enfermedad por TB y la

220 infección por VIH se muestran en la Figura 2A, 2B, 2C y 2D, respectivamente, con cada una de estas figuras incluyendo metanálisis. La Figura 2E muestra las

221 proporciones relativas de crecimiento de micobacterias de los estudios relacionados con el parasitismo, la vitamina D y la altitud; ninguno de los cuales fue susceptible de

222 metanálisis. Los metanálisis mostraron lo siguiente:

223 • El crecimiento de micobacterias en WBMGA se redujo significativamente 2-6 meses después de la vacunación primaria con BCG (Figura 2A). Los datos

224 disponibles sobre la vacunación de refuerzo con BCG no fueron susceptibles de metanálisis (ver la leyenda de la Figura 2A).

225

226 • El crecimiento de micobacterias fue significativamente menor para las poblaciones infectadas con TB que para las poblaciones no infectadas con TB (si la infección

227 se evaluó mediante TST o IGRA, Figura 2B).

228 • El crecimiento de micobacterias fue significativamente menor para los pacientes con enfermedad de TB (ya sea antes o después del tratamiento) que para las

229 personas no infectadas con TB (TST o IGRA negativo, Figura 2C).

230 • El crecimiento de micobacterias fue significativamente menor en personas relativamente inmunocompetentes (ya sean personas no infectadas por VIH o personas

231 infectadas por VIH que reciben TARGA) que en personas no tratadas con infección por VIH (Figura 2D).

232

233 El histograma que representa el registro de las proporciones relativas de crecimiento de micobacterias (Figura 3C) y la gráfica de pseudo-embudo (Figura 3D) están

234 sesgadas a la derecha, lo que puede indicar sesgo de publicación.

235

236 Características del estudio y metodología del ensayo

237 Las características de los estudios incluidos y la metodología WBMGA que se utilizaron se presentan en la Tabla 2 y la Tabla 3, respectivamente. Se

238 utilizaron controles de ensayo en el 53% (ocho de 15) de los estudios incluidos. Se encontró una heterogeneidad considerable en la población, el entorno

239 y las estadísticas informadas (Tabla 2). Las características metodológicas que compararon los estudios, incluidas las concentraciones de inoculado

240 micobacteriano y el uso de controles, fueron diversas (Tabla 3).

241

242

243 [Calidad del estudio](#)

244 La Tabla 4 muestra el resultado de una evaluación de la calidad del estudio utilizando una herramienta de evaluación de la calidad estandarizada desarrollada por NHLBI.

245 Dos de los estudios incluidos recibieron una buena calificación, diez recibieron una calificación regular y tres recibieron una calificación deficiente.

246

247

248 [Comparación de los resultados de los ensayos BCG-lux y MGIT](#)

249 La Figura 3A muestra las diferencias entre los resultados de los ensayos BCG-lux y MGIT realizados al mismo tiempo en las mismas muestras de sangre. El coeficiente

250 de correlación de Pearson de los resultados del ensayo BCG-lux y MGIT, presentados como relaciones de crecimiento de micobacterias, fue de 0,19 ($R_2 = 0,037$). Dos

251 de los cinco puntos de datos mostraron una diferencia de más del doble en la tasa de crecimiento.

252

253

254 [Heterogeneidad de los resultados del estudio de vacunación con BCG](#)

255 La Figura 3B ilustra la heterogeneidad de los resultados de WBMGA de los estudios de vacunación con BCG en diferentes puntos de tiempo después de la vacunación.

256

257

258

259

En revisión

260 Discusión

261

262 Esta revisión sistemática y metaanálisis evaluó la evidencia de que el crecimiento bajo de micobacterias en WBMGA predijo una menor susceptibilidad a la tuberculosis.

263 Esto demostró que un menor crecimiento de micobacterias in vitro en WBMGA se asoció de hecho de manera significativa con factores que se cree que reducen la

264 susceptibilidad a la tuberculosis de las personas in vivo. Los factores que probablemente afecten la susceptibilidad a la tuberculosis, pero que carecen de consenso sobre

265 si aumentarían o disminuirían la susceptibilidad, también mostraron generalmente asociaciones significativas y consistentes con los resultados de WBMGA. Esto implica

266 un valor potencial de WBMGA para la estratificación del riesgo clínico y la evaluación de las vacunas contra la tuberculosis, a pesar de la considerable heterogeneidad

267 clínica, de laboratorio y estadística entre los estudios incluidos.

268

269

270 El desarrollo de biomarcadores para predecir el riesgo de tuberculosis es una prioridad para la eliminación mundial de la tuberculosis [37]. Recientemente se han logrado

271 avances prometedores, incluida la identificación de ARN y firmas metabólicas [38] [39] y puntuaciones de riesgo clínico [4] [5] [40]. Los ensayos de crecimiento tienen

272 como objetivo evaluar funcionalmente la capacidad del huésped para controlar las infecciones, como por ejemplo, los ensayos de crecimiento de la malaria que predijeron

273 el riesgo de enfermedad por una cepa específica de *Plasmodium falciparum* [41]. El énfasis de la investigación de ensayos de crecimiento de micobacterias se ha puesto

274 en la eficacia de la vacuna y los estudios de mediadores inmunitarios, con información limitada sobre el riesgo prospectivo de enfermedad de tuberculosis [8]. Por lo tanto,

275 los datos sobre la relación entre el WBMGA y el riesgo de tuberculosis se limitan a la evidencia indirecta, que se evaluó en esta revisión.

276

277

278 Al cuantificar el crecimiento de micobacterias in vitro, WBMGA puede ser representativo del equilibrio entre los factores que influyen en la progresión de la infección por

279 micobacterias frente a la contención de la infección a través de la inmunidad antimicobacteriana del huésped. En general, se plantea la hipótesis de que un menor

280 crecimiento de micobacterias en WBMGA in vitro implica una restricción inmunitaria de las micobacterias y, por tanto, una menor susceptibilidad a la tuberculosis, es decir,

281 un menor riesgo de infección por tuberculosis o enfermedad de tuberculosis in vivo [8]. En la revisión actual, encontramos que los estudios de WBMGA de los factores que

282 se cree reducen la susceptibilidad a la tuberculosis, es decir, la vacunación con BCG, la negatividad / terapia del VIH, la suplementación con vitamina D y el ascenso a la

283 altitud respaldaron en gran medida esta hipótesis. Aunque cada uno de los estudios incluidos sobre la vacunación con BCG mostró una asociación significativa con los

284 resultados de WBMGA, el tiempo transcurrido desde la vacunación hasta una inhibición significativa del crecimiento de las micobacterias varió considerablemente,

285 posiblemente debido a la heterogeneidad metodológica y de la población. Además, aunque la eficacia protectora de la vacuna BCG contra la tuberculosis infantil grave es

286 considerable, la protección que ofrece contra la tuberculosis pulmonar es variable y probablemente depende de varios factores ambientales y dependientes del huésped,

287 incluidas las variaciones en la exposición a micobacterias ambientales y cepas de BCG, lo que confunde la comparabilidad e interpretación de estos estudios [18] [42].

288 Cabe señalar que todos los estudios de WBMGA de vacunación con BCG utilizaron BCG in vitro; por tanto, la evaluación del efecto potencial de la vacuna BCG en

289 Aunque la eficacia protectora de la vacuna BCG contra la tuberculosis infantil grave es considerable, la protección que ofrece contra la tuberculosis pulmonar es variable y

290 probablemente depende de varios factores ambientales y dependientes del huésped, incluidas las variaciones en la exposición a micobacterias ambientales y cepas de

291 BCG, lo que confunde la comparabilidad e interpretación de estos estudios [18] [42]. Cabe destacar que todos los estudios de WBMGA de vacunación con BCG utilizaron BCG in vitro; por lo tanto,

292 se espera el crecimiento en sangre total in vitro. Se desconoce si un menor crecimiento de micobacterias in vitro después de la vacunación con BCG implica una

293 protección a largo plazo contra la enfermedad de la tuberculosis en lugar de un fortalecimiento temporal de la inmunidad antimicobacteriana adaptativa o la inmunidad

294 innata entrenada [43].

295

296 Se debate hasta qué punto la exposición a la tuberculosis y la infección de tuberculosis latente (ITBL) pueden afectar la susceptibilidad a la enfermedad de tuberculosis

297 causada por la reactivación de la tuberculosis frente a la reinfección [44]. Actualmente las principales pruebas para diagnosticar LTBI son TST e IGRA,

298 que tienen limitaciones, incluida la evaluación indirecta de la memoria inmunológica en lugar de la evaluación directa de la infección real [45]. Estas pruebas
299 solo predicen débilmente el riesgo de enfermedad de tuberculosis posterior [45] y sus resultados están influenciados por factores que incluyen el estado
300 nutricional y otras causas de inmunodeficiencia [22] [46]. Podría esperarse una asociación entre un mayor crecimiento de micobacterias en WBMGA (lo que
301 potencialmente implica una mayor susceptibilidad a la tuberculosis), lo que lleva a una mayor probabilidad de LTBI, en consonancia con la asociación
302 probada entre LTBI y un mayor riesgo de tuberculosis en el futuro. Sin embargo, esta hipótesis no fue apoyada por ninguno de los estudios incluidos. Más
303 bien, dos de los cinco estudios incluidos informaron asociaciones significativas y ambos indicaron la asociación opuesta. Específicamente, Se encontró
304 menos crecimiento de micobacterias en WBMGA (potencialmente implicando menos susceptibilidad a la TB) en personas con LTBI, a pesar de su mayor
305 riesgo comprobado de enfermedad de TB en el futuro, posiblemente porque la replicación de micobacterias en el huésped puede provocar una respuesta
306 inmune que inhibe el crecimiento de micobacterias en WBMGA [7]. Se ha sugerido que esto proporciona información sobre la posición de un individuo en el
307 espectro de LTBI, luego del creciente reconocimiento de que LTBI representa un grupo diverso que va desde aquellos que pueden haber eliminado
308 completamente la infección hasta aquellos con replicación activa. *M. tuberculosis* sin síntomas clínicos [47]. Si los resultados de WBMGA coinciden con este
309 espectro, pueden ayudar a informar la estratificación del riesgo de progresión a TB activa [7]. Los resultados del estudio incluido de O'Shea parecen implicar
310 esto, pero no se especifica si los pacientes con TB activa ya estaban recibiendo tratamiento, lo que puede influir en el crecimiento de micobacterias in vitro
311 [7]. Todos estos hallazgos pueden explicarse por la hipótesis de que la infección de TB latente o la enfermedad de TB causan una activación inmune que
312 reduce la susceptibilidad a la TB (como lo indica la reducción del crecimiento de micobacterias en WBMGA), reduciendo el riesgo de que una nueva
313 exposición a la TB cause una superinfección, reinfección o enfermedad de tuberculosis posterior. Esta hipótesis integradora está respaldada por algunos
314 datos epidemiológicos y experimentación animal y debería ser el foco de la investigación futura [47] [48]

En revisión

315
316
317
318
319
320 Las infecciones por helmintos se superponen geográficamente con la ITBL y la tuberculosis. Algunos helmintos, incluida la anquilostomiasis, suprimen las respuestas
321 inmunitarias antimicobacterianas medidas por TST e IGRA, y esta supresión es reversible con tratamiento antihelmíntico [49] [50]. Esto podría ser un efecto directo de los
322 helmintos que se sabe que causan algunas formas de inmunosupresión y anergia [51], o podría ser causado indirectamente por infecciones por helmintos que causan
323 desnutrición, que también suprime algunas medidas de inmunidad antimicobacteriana [35]. Por lo tanto, las infecciones por helmintos pueden suprimir la inmunidad
324 antimicobacteriana lo suficiente como para aumentar la susceptibilidad a la tuberculosis [51], lo que hace que las infecciones por helmintos se asocien con un mayor
325 crecimiento de micobacterias en WBMGA. Sin embargo, Hay pruebas contrarias de que las infecciones por helmintos pueden estimular la inmunidad antimicobacteriana
326 [33] y el único estudio sobre helmintos y WBMGA demostró que la anquilostomiasis (pero no otras especies de helmintos) se asoció con un menor crecimiento de
327 micobacterias en WBMGA, que fue reversible con el tratamiento contra la anquilostomiasis. Hubo alguna evidencia de mediación por eosinofilia inducida por
328 anquilostomas [34]. Estos hallazgos aparentemente contradictorios pueden explicarse por la complejidad de la inmunidad antimicobacteriana: la inmunidad
329 antimicobacteriana medida por TST e IGRA puede ser distinta de los mediadores evaluados en el WBMGA. Hubo alguna evidencia de mediación por eosinofilia inducida
330 por anquilostomas [34]. Estos hallazgos aparentemente contradictorios pueden explicarse por la complejidad de la inmunidad antimicobacteriana: la inmunidad
331 antimicobacteriana medida por TST e IGRA puede ser distinta de los mediadores evaluados en el WBMGA. Hubo alguna evidencia de mediación por eosinofilia inducida
332 por anquilostomas [34]. Estos hallazgos aparentemente contradictorios pueden explicarse por la complejidad de la inmunidad antimicobacteriana: la inmunidad antimicobacteriana medida por TST e

333
334 Una fortaleza de este estudio es que es la primera evaluación de si diversos estudios sugieren que los resultados de WBMGA predicen el riesgo de tuberculosis. Las
335 limitaciones incluyeron la ausencia de evidencia directa, por lo que los estudios incluidos no pudieron proporcionar una

336 respuesta directa a nuestra pregunta de investigación. Otra limitación fue la diversidad: las profundas variaciones en el diseño del estudio, la metodología, el
337 análisis estadístico, la población y el tamaño de la muestra en los estudios que identificó nuestra revisión sistemática confundieron su comparación y síntesis
338 mediante metanálisis, y también complicaron la evaluación de la calidad del estudio. Particularmente preocupante fue la falta de controles en
339 aproximadamente la mitad de los estudios incluidos. La variación en la metodología estadística informada y el fracaso de la mayoría de los estudios incluidos
340 para publicar sus datos de origen nos impidió calcular los intervalos de confianza en nuestras evaluaciones de los resultados de WBMGA y nos obligó a
341 calcular el efecto promedio ponderado en lugar de utilizar técnicas óptimas de metanálisis, lo que limita la precisión de nuestros metanálisis.

342
343
344
345 Una vez finalizada la búsqueda bibliográfica de esta revisión sistemática, se publicó un estudio de Gambia que habría cumplido con nuestros criterios de
346 inclusión si se hubiera publicado antes y es digno de mención por dos razones metodológicas principales [52]. En primer lugar, este estudio utilizó un nuevo
347 WBMGA autoluminiscente, que permite recolectar muestras de sangre de volumen más pequeño y medir en serie la luminiscencia sin destrucción de la
348 muestra. En segundo lugar, WBMGA se utilizó para evaluar pares de niños altamente expuestos a TB con estado de TST discordante, un diseño de estudio
349 novedoso que permite la comparación de individuos con un nivel presuntamente similar de exposición a TB [52]. Esto contrasta con los estudios incluidos en
350 nuestra revisión en los que la exposición a la tuberculosis podría ser un factor de confusión potencial. Sin embargo, aparte de estos dos nuevos avances
351 metodológicos, los hallazgos de este estudio fueron similares a los estudios incluidos en nuestra revisión, demostrando un mayor crecimiento de
352 micobacterias en niños no infectados que en niños infectados. Este estudio publicado recientemente no altera las conclusiones de nuestra revisión
353 sistemática.

354
355
356 En conclusión, los resultados de WBMGA generalmente mostraron asociaciones estadísticamente significativas con factores conocidos o
357 que probablemente afecten la susceptibilidad a la tuberculosis. Sin embargo, estos estudios fueron diversos y existe la necesidad de una
358 estandarización metodológica, así como una evaluación sistemática de la reproducibilidad de los resultados de WBMGA, como se ha hecho
359 para los ensayos basados en PBMC [53]. Es importante destacar que se necesitan con urgencia evaluaciones prospectivas de si WBMGA
360 predice el riesgo de infección o enfermedad de tuberculosis de las personas, aunque es probable que estos estudios sean lentos y costosos
361 debido a la incidencia relativamente baja de cualquiera de los resultados, el largo intervalo durante el cual se desarrollan estos resultados, y
362 Dificultades de diagnóstico que dificultan la prueba de la ausencia de infección o enfermedad tuberculosa.

363
364
365

366 [Declaracion de conflicto de interes](#)

367
368 Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un
369 potencial conflicto de intereses.

370 [Contribuciones de autor](#)

371

372 Todos los autores participaron en la investigación y preparación del manuscrito, y todos han revisado y aprobado el manuscrito tal como se
373 envió. JB, RH y CE contribuyeron a la concepción del estudio; JB y CE buscaron los datos; JB y CE extrajeron los datos; JB analizó los
374 datos; JB, RH y CE interpretaron los datos; y JB, RH y CE prepararon el manuscrito.

375

376 Fondos

377

378 Se agradece la financiación de: Wellcome Trust (premios 057434 / Z / 99 / Z, 070005 / Z / 02 / Z, 078340 / Z / 05 / Z, 105788 / Z / 14 / Z
379 y 201251 / Z / 16 / Z); DFID-CSCF; el consorcio Joint Global Health Trials (premio MR / K007467 / 1 de MRC, DFID y Wellcome Trust);
380 la iniciativa TB REACH de STOP TB, financiada por el Gobierno de Canadá y la Fundación Bill y Melinda Gates (premios
381 W5_PER_CDT1_PRISMA y OPP1118545); y la organización benéfica IFHAD: Innovación para la salud y el desarrollo

382

383

384 Agradecimientos

385

386 Agradecemos al profesor Larry Moulton de la Universidad Johns Hopkins y a la Dra. Emily MacLean de la Universidad McGill y a los siguientes miembros
387 de nuestro equipo de investigación de IFHAD: Dra. Sumona Datta, Dr. Matthew Saunders, Dr. James Wilson, Dra. Linda Chanamé Pinedo, Lic. Luz
388 Quevedo, quienes lo hacen no cumplen con las reglas de requisitos para la publicación, pero han hecho comentarios y sugerencias útiles sobre este
389 proyecto de investigación y manuscrito.

390

391

392 Referencias

393

394 [1] "Informe mundial sobre la tuberculosis 2020". Organización Mundial de la Salud. [https://www.who.int/teams/global-](https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-program/tb-reports/global-tuberculosis-report-2020)
395 [tuberculosis-program / tb-reports / global-tuberculosis-report-2020](https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-program/tb-reports/global-tuberculosis-report-2020) (consultado el 24 de febrero de 2021). [2]

396 P. Narasimhan, J. Wood, CR MacIntyre y D. Mathai, "Factores de riesgo para la tuberculosis", *Medicina pulmonar*, 2013.
397 <https://www.hindawi.com/journals/pm/2013/828939/> (consultado el 19 de febrero de 2020). [3]

398 G. Walzl, K. Ronacher, W. Hanekom, TJ Scriba y A. Zumla, "Biomarcadores inmunológicos de
399 tuberculosis," *Nature Reviews Inmunología*, vol. 11, no. 5, págs. 343–354, mayo de 2011, doi: 10.1038 / nri2960. [4]

400 MJ Saunders *et al.*, "Una puntuación para predecir y estratificar el riesgo de tuberculosis en contactos adultos de casos índice de tuberculosis: un
401 estudio de cohorte de derivación prospectiva y validación externa" *Enfermedades Infecciosas de The Lancet*, vol. 17, no. 11, págs. 1190-1199, noviembre de 2017,
402 doi: 10.1016 / S1473-3099 (17) 30447-4. [5]

403 MJ Saunders *et al.*, "Búsqueda activa y pasiva de casos en hogares afectados por tuberculosis en Perú: un estudio de cohorte prospectivo de 10
404 años" *Enfermedades Infecciosas de The Lancet*, vol. 19, no. 5, págs. 519–528, mayo de 2019, doi:
405 10.1016 / S1473-3099 (18) 30753-9.

406 [6] R. Tanner, MK O'Shea, HA Fletcher y H. McShane, "In vitro mycobacterial growth inhibition
407 ensayos: una herramienta para la evaluación de la inmunidad protectora y la evaluación de la eficacia de la vacuna contra la tuberculosis ",
408 *Vacuna*, vol. 34, no. 39, págs. 4656–4665, septiembre de 2016, doi: 10.1016 / j.vaccine.2016.07.058.

409 [7] MK O'Shea *et al.*, "Los correlatos inmunológicos de la inhibición del crecimiento de micobacterias describen un espectro
410 de la infección por tuberculosis " *Informes científicos*, vol. 8, no. 1, pág. 14480, septiembre de 2018, doi: 10.1038 / s41598-018-32755-
411 x.

412 [8] R. Tanner, MK O'Shea, HA Fletcher y H. McShane, "In vitro mycobacterial growth inhibition
413 ensayos: una herramienta para la evaluación de la inmunidad protectora y la evaluación de la eficacia de la vacuna contra la tuberculosis ",
414 *Vacuna*, vol. 34, no. 39, págs. 4656–4665, septiembre de 2016, doi: 10.1016 / j.vaccine.2016.07.058. [9]

415 S. Eisen *et al.*, "Efectos del ascenso a grandes alturas sobre la inmunidad antimicobacteriana humana", *Más uno*,
416 vol. 8, no. 9, pág. e74220, septiembre de 2013, doi: 10.1371 / journal.pone.0074220. [10]

417 AR Martineau *et al.*, "Resistencia inmune innata mediada por neutrófilos a las micobacterias" *Revista de investigación clínica*, vol. 117,
418 no. 7, págs. 1988–1994, julio de 2007, doi: 10.1172 / JCI31097. [11]

419 R. Tanner *et al.*, "La influencia de la hemoglobina y el hierro en los ensayos de inhibición del crecimiento de micobacterias in vitro" *Representante de*
420 *ciencia*, vol. 7, marzo de 2017, doi: 10.1038 / srep43478. [12]

421 B. Kampmann, P. Ó. Gaora, VA Snewin, M. Gares, DB Young y M. Levin, "Evaluation of Human
422 Inmunidad antimicobacteriana mediante micobacterias indicadoras recombinantes ", *La Revista de Enfermedades Infecciosas*,
423 vol. 182, no. 3, págs. 895–901, septiembre de 2000, doi: 10.1086 / 315766. [13]

424 RS Wallis *et al.*, "Un ensayo bactericida en sangre completa para la tuberculosis", *La Revista de Enfermedades Infecciosas*, vol. 183, no.
425 8, págs. 1300-1303, abril de 2001, doi: 10.1086 / 319679. [14]

426 D. Moher, A. Liberati, J. Tetzlaff, DG Altman y TP Group, "Preferred Reporting Items for
427 Revisiónes sistemáticas y metaanálisis: la declaración PRISMA ", *La Medicina*, vol. 6, no. 7, pág. e1000097, julio
428 2009, doi: 10.1371 / journal.pmed.1000007.

429 [15] L. Instituto Nacional del Corazón y la Sangre, "Herramienta de evaluación de la calidad para cohortes observacionales y
430 estudios seccionales " *Bethesda: Institutos Nacionales de Salud, Departamento de Salud y Servicios Humanos*, págs. 103–
431 111, 2014.

432 [dieciséis] FE Harrell Jr, C. Dupont y otros, *Hmisc: Harrell Varios*. 2019.

433 [17] EL Corbett *et al.*, "La carga cada vez mayor de la tuberculosis: tendencias e interacciones mundiales con la epidemia del VIH", *Arco. Interno*.
434 *Medicina.*, vol. 163, no. 9, págs. 1009–1021, mayo de 2003, doi: 10.1001 / archinte.163.9.1009. [18]

435 A. Roy *et al.*, "Efecto de la vacunación con BCG contra la infección por *Mycobacterium tuberculosis* en niños: revisión sistemática y
436 metanálisis", *BMJ*, vol. 349, agosto de 2014, doi: 10.1136 / bmj.g4643. [19]

437 KE Nnoaham y A. Clarke, "Niveles bajos de vitamina D en suero y tuberculosis: una revisión sistemática y
438 metanálisis " *Int J Epidemiol*, vol. 37, no. 1, págs. 113-119, febrero de 2008, doi: 10.1093 / ije / dym247. [20]

439 MH Vargas, MEY Furuya y C. Pérez-Guzmán, "Efecto de la altitud sobre la frecuencia de enfermedades pulmonares
440 tuberculosis ", pág. 4.

441 [21] N. du Plessis y G. Walzl, "Helminth-M. Co-infección por tuberculosis ", en *Cómo los helmintos alteran la inmunidad a las infecciones*, W.
442 Horsnell, Ed. Nueva York, NY: Springer New York, 2014, págs. 49–74. [22]

443 MX Rangaka *et al.*, "Valor predictivo de los ensayos de liberación de interferón- γ para la tuberculosis activa incidente: una revisión sistemática y un
444 metanálisis" *Enfermedades Infecciosas de The Lancet*, vol. 12, no. 1, págs. 45–55, enero de 2012, doi:
445 10.1016 / S1473-3099 (11) 70210-9.

446 [23] DF Hoft *et al.*, "Investigación de las relaciones entre la inhibición inmunomediada de

447 Crecimiento de micobacterias y otros posibles marcadores sustitutos de la inmunidad protectora de *Mycobacterium tuberculosis* ". *J infectar enfermedades* vol.
448 186, no. 10, págs. 1448-1457, noviembre de 2002, doi: 10.1086 / 344359. [24]

449 HA Fletcher *et al.*, "Inhibición del crecimiento de micobacterias in vitro después de la vacunación primaria pero no secundaria con
450 *Mycobacterium bovis* BCG", *Clin Vaccine Immunol*, vol. 20, no. 11, págs. 1683-1689, noviembre de 2013, doi: 10.1128 / CVI.00427-13.
451

452 [25] B. Kampmann, GN Tena, S. Mzazi, B. Eley, DB Young y M. Levin, "Novedosos sistemas humanos in vitro
453 para la evaluación de vacunas antimicobacterianas " *Infección e inmunidad*, vol. 72, no. 11, págs. 6401-6407, noviembre de 2004, doi: 10.1128 /
454 IAI.72.11.6401-6407.2004.

455 [26] AR Martineau *et al.*, "Una sola dosis de vitamina D mejora la inmunidad a las micobacterias" *Soy. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 176, no.
456 2, págs. 208-213, julio de 2007, doi: 10.1164 / rccm.200701-007OC. [27]

457 M. Saito *et al.*, "COMPARACIÓN DEL EFECTO DE LA ALTITUD EN LA INFECCIÓN POR MICOBACTERIO TUBERCULOSIS ENTRE
458 COMUNIDADES RURALES Y URBANAS DEL PERÚ", *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 75, no. 1, págs. 49-54, julio de 2006, doi:
459 10.4269 / ajtmh.2006.75.49. [28]

460 GN Tena *et al.*, "No se pudo controlar el crecimiento de micobacterias en la sangre de niños infectados con el virus de la inmunodeficiencia
461 humana y su relación con la función de las células T" *J. Infect. Dis.*, vol. 187, no. 10, págs. 1544-
462 1551, mayo de 2003, doi: 10.1086 / 374799. [29]

463 B. Kampmann, GN Tena-Coki, MP Nicol, M. Levin y B. Eley, "Reconstrucción de respuestas antimicobacterianas
464 respuestas inmunitarias en niños infectados por el VIH que reciben TARSA. " *AIDS*, vol. 20, no. 7, págs. 1011-1018, abril de 2006, doi: 10.1097 /
465 01.aids.0000222073.45372.ce.

466 [30] R. Euguma *et al.*, "Aplicación de un ensayo de inhibición del crecimiento de micobacterias en sangre total para estudiar la inmunidad contra
467 *Mycobacterium tuberculosis* en una población con alta carga de tuberculosis" *MÁS UNO*, vol. 12, no. 9, pág. e0184563, septiembre de 2017, doi: 10.1371 /
468 journal.pone.0184563.

469 [31] RS Wallis, S. Vinhas y E. Janulionis, "La especificidad de cepa de la inmunidad antimicobacteriana en
470 hemocultivo después de la curación de la tuberculosis " *Tuberculosis*, vol. 89, no. 3, págs. 221-224, mayo de 2009, doi:
471 10.1016 / j.tube.2009.02.001.

472 [32] MP Nicol *et al.*, "Inmunidad anti-micobacteriana mejorada en niños con eritema nudoso y una prueba cutánea de tuberculina positiva", *J*
473 *Invest Dermatol*, vol. 127, no. 9, págs. 2152-2157, septiembre de 2007, doi:
474 10.1038 / sj.jid.5700845.

475 [33] V. Borelli *et al.*, "La peroxidasa de eosinófilos humanos induce la alteración de la superficie, la destrucción y la lisis de *Mycobacterium*
476 *tuberculosis*", *Infección e inmunidad*, vol. 71, no. 2, págs. 605-613, febrero de 2003, doi:
477 10.1128 / IAI.71.2.605-613.2003.

478 [34] MK O'Shea *et al.*, "La infección por anquilostomas en humanos mejora la inhibición del crecimiento de micobacterias y se asocia con un riesgo
479 reducido de infección por tuberculosis", *Parte delantera. Immunol.*, vol. 9, pág. 2893, diciembre de 2018, doi:
480 10.3389 / fimmu.2018.02893.

481 [35] JP Cegielski y DN McMurray, "La relación entre desnutrición y tuberculosis: evidencia
482 de estudios en humanos y animales de experimentación ", pág. 14. [36]

483 D. Elias, G. Mengistu, H. Akuffo y S. Britton, "Son los helmintos intestinales factores de riesgo para desarrollar
484 tuberculosis activa? " *Medicina Tropical y Salud Internacional*, vol. 11, no. 4, págs. 551-558, 2006, doi:

485 10.1111 / j.1365-3156.2006.01578.x.

486 [37] "QUIÉN | Informe mundial sobre tuberculosis 2018 ". *QUIÉN*.

487 http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/ (consultado el 4 de julio de 2019). [38]

488 DE Zak *et al.*, "Una firma de ARN en sangre para el riesgo de enfermedad de tuberculosis: un estudio de cohorte prospectivo" *La Lanceta*, vol. 387, no.

489 10035, págs. 2312-2322, junio de 2016, doi: 10.1016 / S0140-6736 (15) 01316-1. [39]

490 J. Weiner *et al.*, "Los cambios de metabolitos en la sangre predicen la aparición de tuberculosis", *Comunicaciones de la naturaleza*, vol.

491 9, no. 1, pág. 5208, diciembre de 2018, doi: 10.1038 / s41467-018-07635-7. [40]

492 AM Mandalakas *et al.*, "La exposición a la tuberculosis bien cuantificada es una medida sustituta confiable de la infección por tuberculosis", 1 de

493 agosto de 2012.

494 <https://www.ingentaconnect.com/content/iuatld/ijtld/2012/00000016/00000008/art00009> (consultado el 30 de julio de

495 2019).

496 [41] J. Rono, A. Färnert, D. Olsson, F. Osier, I. Rooth y KEM Persson, "Plasmodium falciparum line-

497 asociación dependiente de la actividad inhibitora del crecimiento in vitro y el riesgo de malaria ", *Infectar. Inmun.*, vol. 80, no. 5, págs. 1900-1908, mayo de

498 2012, doi: 10.1128 / IAI.06190-11.

499 [42] PEM Fine, "Variación en la protección por BCG: implicaciones de y para la inmunidad heteróloga", *La Lanceta*, vol. 346, no. 8986, págs.

500 1339-1345, noviembre de 1995, doi: 10.1016 / S0140-6736 (95) 92348-9. [43]

501 SA Joosten *et al.*, "La inhibición del crecimiento de micobacterias está asociada con una inmunidad innata entrenada", *J Clin Invest*, vol. 128, no. 5,

502 págs. 1837-1851, mayo de 2018, doi: 10.1172 / JCI97508. [44]

503 Esmail H., Barry CE, Young JB, Willinson J, "El desarrollo continuo de la tuberculosis latente",

504 *Transacciones Filosóficas de la Royal Society B: Ciencias biológicas*, vol. 369, no. 1645, pág. 20130437, junio.

505 2014, doi: 10.1098 / rstb.2013.0437.

506 [45] R. Diel, R. Loddenkemper y A. Nienhaus, "Valor predictivo de los ensayos de liberación de interferón- γ y

507 prueba cutánea de tuberculina para determinar la progresión de la infección tuberculosa latente al estado patológico: un metanálisis ", *Pecho*, vol.

508 142, no. 1, págs. 63-75, julio de 2012, doi: 10.1378 / chest.11-3157. [46]

509 JR Andrews, F. Noubary, RP Walensky, R. Cerda, E. Losina y CR Horsburgh, "Riesgo de progresión

510 a la tuberculosis activa después de una reinfección por *Mycobacterium tuberculosis* ", *Clin Infect Dis*, vol. 54, no. 6, págs. 784-791, marzo de 2012,

511 doi: 10.1093 / cid / cir951.

512 [47] CE Barry tercero *et al.*, "El espectro de la tuberculosis latente: repensar la biología y las estrategias de intervención" *Nature Reviews*

513 *Microbiología*, vol. 7, no. 12, págs. 845-855, diciembre de 2009, doi: 10.1038 / nrmicro2236. [48]

514 AM Cadena *et al.*, "La infección concurrente con *Mycobacterium tuberculosis* confiere una protección sólida contra la infección secundaria en

515 macacos", *PLoS Pathog*, vol. 14, no. 10, pág. e1007305, octubre de 2018, doi:

516 10.1371 / journal.ppat.1007305.

517 [49] D. Elias, D. Wolday, H. Akuffo, B. Petros, U. Bronner y S. Britton, "Efecto de la desparasitación en humanos T

518 respuestas celulares a antígenos micobacterianos en individuos expuestos a helmintos antes y después de la vacunación con bacilo de Calmette-Guérin

519 (BCG)" *Inmunología clínica y experimental*, vol. 123, no. 2, págs. 219-225, 2001, doi:

520 10.1046 / j.1365-2249.2001.01446.x.

521 [50] S. Banfield, E. Pascoe, A. Thambiran, A. Siafarikas y D. Burgner, "Factors Associated with the

522 Rendimiento de un ensayo de liberación de interferón- γ basado en sangre en el diagnóstico de tuberculosis ", *Más uno*, vol. 7, no. 6,

523 Junio de 2012, doi: 10.1371 / journal.pone.0038556. [51]

524 S. Babu y TB Nutman, "Co-infección por helmintos-tuberculosis: una perspectiva inmunológica", *Tendencias Immunol*, vol. 37, no. 9, págs.

525 597–607, septiembre de 2016, doi: 10.1016 / j.it.2016.07.005. [52]

526 R. Basu Roy *et al.*, "Protección contra la infección por micobacterias: un estudio de casos y controles de las respuestas inmunes a las micobacterias en

527 parejas de niños de Gambia con estado de infección discordante a pesar de la exposición a la tuberculosis" *EBioMedicine*, vol. 59, pág. 102891, septiembre de 2020,

528 doi: 10.1016 / j.ebiom.2020.102891. [53]

529 R. Tanner *et al.*, "Optimización, armonización y estandarización del ensayo de inhibición directa del crecimiento de micobacterias utilizando

530 células mononucleares de sangre periférica humana criopreservadas" *Revista de métodos inmunológicos*, vol. 469, págs. 1 a 10, junio de 2019, doi: 10.1016

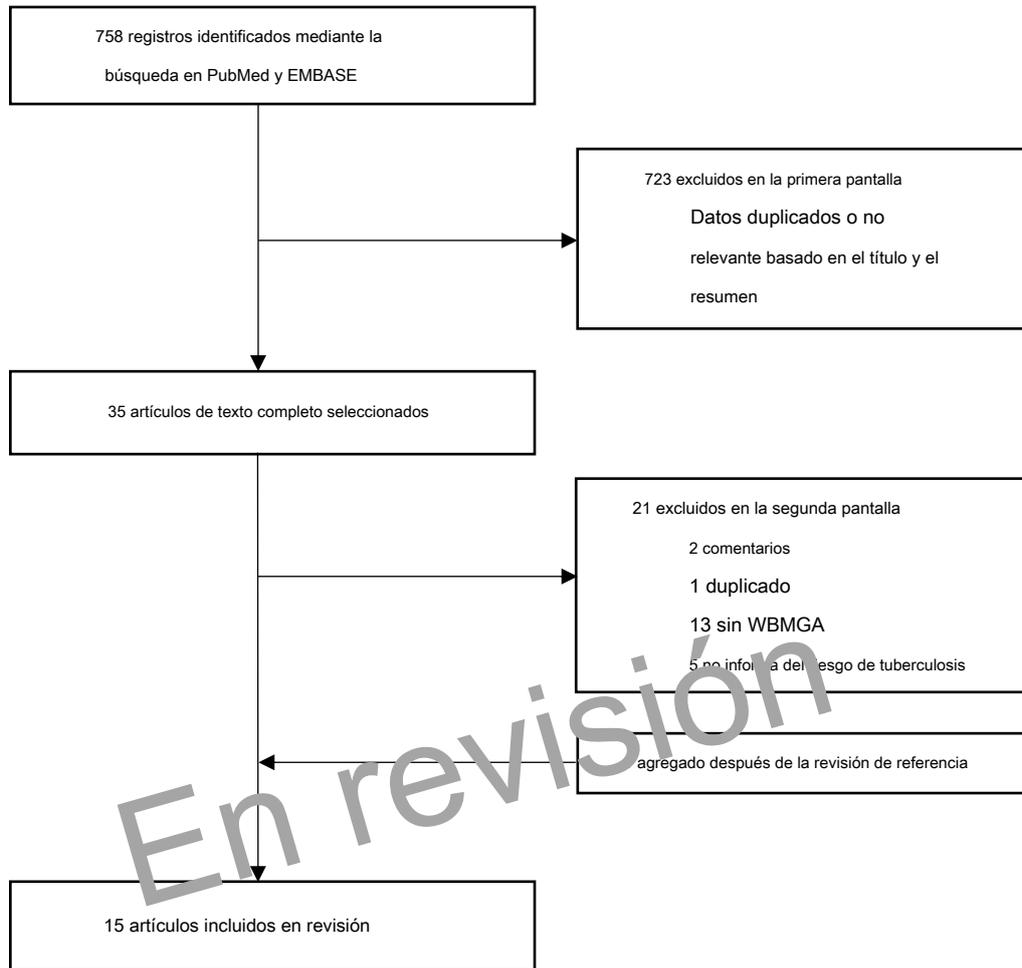
531 / j.jim.2019.01.006.

532

En revisión

Figuras y tablas

Figura 1. Diagrama de flujo de la selección de papel



Cuadro 1A. Resumen de los factores que se cree que disminuyen la susceptibilidad a la tuberculosis y su asociación con un menor crecimiento de micobacterias en WBMGA.

Categoría	Publicación	Grupo de estudio vs comparador	Bacterias †	Valor p
Riesgo de tuberculosis	-	No hay estudios que predigan el riesgo de infección o enfermedad Después de la	N / A	N / A
Vacunación BCG	Cheon et al 2002	vacunación primaria (frente a la vacunación previa) Después de la dosis de	BCG-lux ^	NS
		recuerdo (frente a la vacunación previa)	BCG-lux ^	*
	Hoft et al 2002	Después de la vacunación primaria (frente a la vacunación previa) Después de	BCG-lux	NS
		la dosis de recuerdo (frente a la vacunación previa)	BCG-lux	*
	Kampmann et al 2004	Después de la vacunación primaria (frente a la vacunación previa)	BCG-lux	*
	Fletcher et al 2013	Previamente vacunados (frente a no vacunados)	BCG	NS
		Después de la vacunación primaria (frente a la prevacunación) Después de la	BCG	*
		dosis de recuerdo (frente a la dosis previa)	BCG	NS
Vitamina D suplementación	Martineau et al 2007b	Suplementado con vitamina D (frente a placebo)	BCG-lux *	
Altitud	Eisen et al 2013	Residentes de gran altitud (frente a baja) a gran altitud Antes (frente a después)	BCG-lux NS	
		del ascenso para los residentes de baja altitud	BCG-lux *	
Seronegatividad al VIH	Kampmann et al 2006 / terapia	Después de comenzar el tratamiento HAAR (vs no-HAAR)	BCG-lux *	
	Tena et al 2003	No infectados por el VIH (frente a los niños infectados por el VIH (sin TARGA))	BCG-lux *	

† El crecimiento de las micobacterias BCG-lux se mide mediante un ensayo BCG-lux, como se esperaba en el estudio de Cheon, donde se utilizó un ensayo MGIT

* Cualquier comparación fue estadísticamente significativa NS
Comparación no estadísticamente significativa N/A Pruebas estadísticas no disponibles

Cuadro 1B. Resumen de los resultados de los factores que pueden afectar la susceptibilidad a la tuberculosis y su asociación con un menor crecimiento de micobacterias en WBMGA.

Categoría	Publicación	Grupo de estudio vs comparador	Bacterias	Valor p
Infección de tuberculosis	Tena et al 2003	TST + (frente a TST-)	BCG-lux	N / A
	Kampmann et al 2000	TST + (frente a TST-)	BCG-lux	*
	Martineau et al 2007a	TST + (frente a TST-)	BCG-lux	NS
	Baguma et al 2017	IGRA + (frente a IGRA-)	BCG H37Rv HN878 CDC1551	NS
			BCG M.tb	**
			BCG M.tb	**
Enfermedad de tuberculosis	O'Shea et al 2018a	Enfermedad de tuberculosis (frente a	BCG M.tb	**
		IGRA-) Enfermedad de tuberculosis (frente a IGRA +)	BCG M.tb	*
		Enfermedad de tuberculosis antes de la prescripción (frente a enfermedad de tuberculosis curada)	BCG M.tb	**
	Wallis et al 2009	Enfermedad de tuberculosis curada (frente a TST-)	Poseer \$ MP28 H37RA	*
	Nicol et al 2007	Enfermedad de tuberculosis (frente a enfermedad de tuberculosis)	BCG-lux	*
	Parasitismo	O'Shea et al 2018b	Anquilostomiasis infectadas (frente a no infectadas) Anquilostomas	H37Rv
infectadas antes (frente a pos-) Rx			H37Rv	*

Own \$ indica el *M. tuberculosis* cepa que causó la enfermedad del participante

* Cualquier comparación fue estadísticamente significativa

** Todas las comparaciones múltiples fueron estadísticamente significativas NS
Comparación no estadísticamente significativa

NA Prueba estadística no disponible

IGRA indica el ensayo de liberación de interferón-γ.

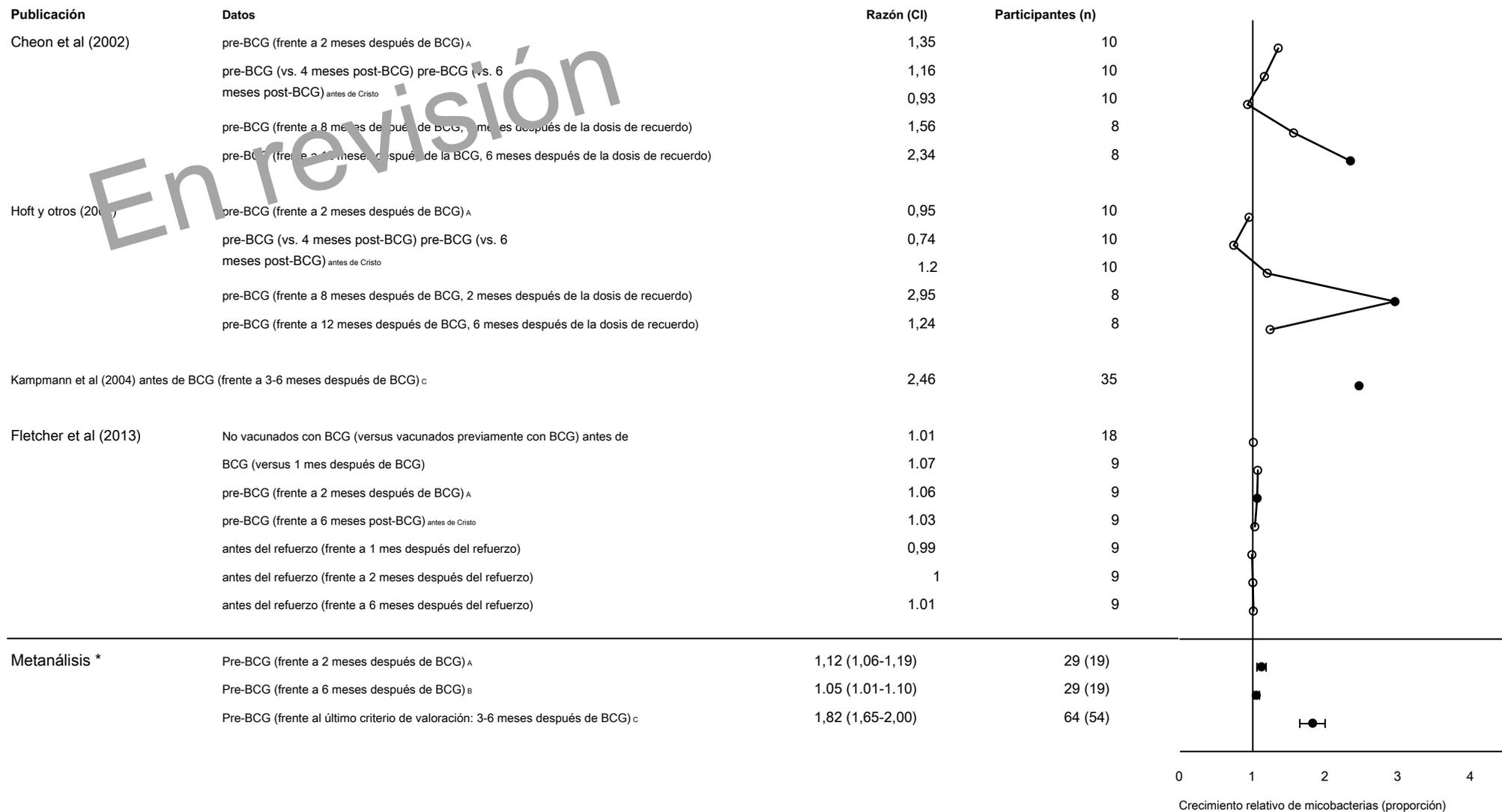


Figura 2A. Razones de crecimiento relativo de micobacterias de comparaciones realizadas en estudios de vacunación con BCG.

Publicación	Datos	Proporción de participantes (n)	
O'Shea y otros (2018b)	Anquilostoma no infectado (frente a anquilostomas infectados)	1,38	22
	Anquilostomiasis no infectado después de la prescripción (frente a antes de la prescripción)	1,29	13
Martineau et al (2007b) Placebo (frente a vitamina D)		1,25	131
Eisen et al (2013) +	Residentes de baja altitud antes del ascenso (frente a después del ascenso a gran altitud) Baja altitud	3,65	15
	después del ascenso a gran altitud (frente a residentes de gran altitud)	0,95	62

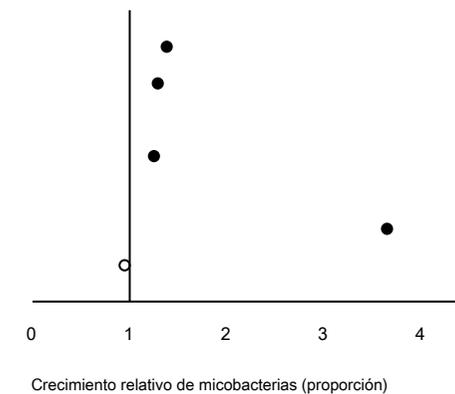


Figura 2B. Proporciones relativas de crecimiento de micobacterias de las comparaciones realizadas en estudios de parasitismo, vitamina D y altitud.

+ Tenga en cuenta que Eisen et al (2013) consideraron el crecimiento en relación con las muestras de control para ajustar los efectos de la altitud sobre el crecimiento de micobacterias.

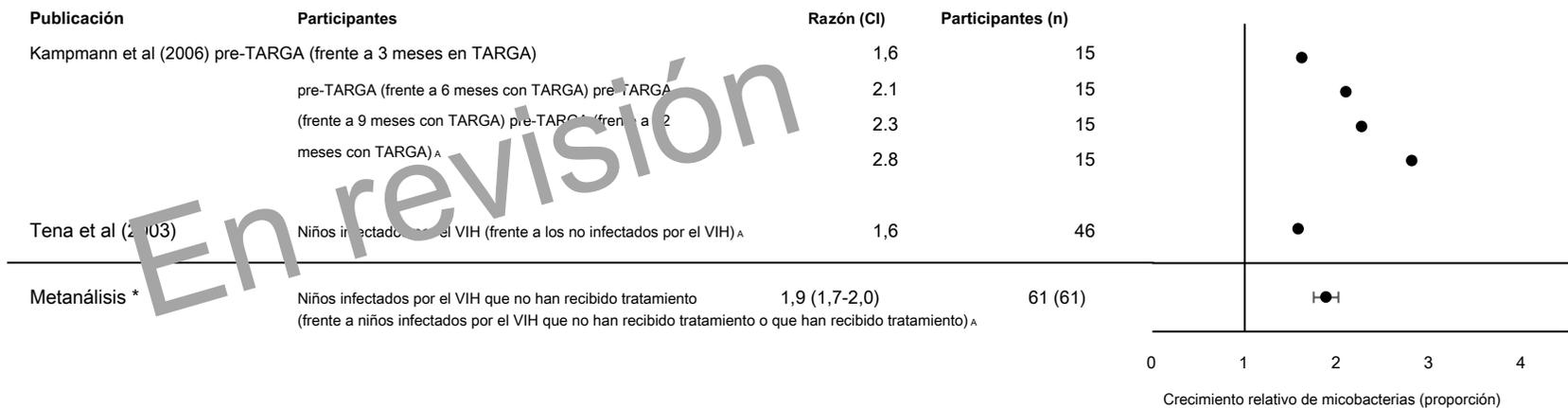


Figura 2C. Razones de crecimiento de micobacterias relativas de comparaciones realizadas en estudios del VIH y su tratamiento.

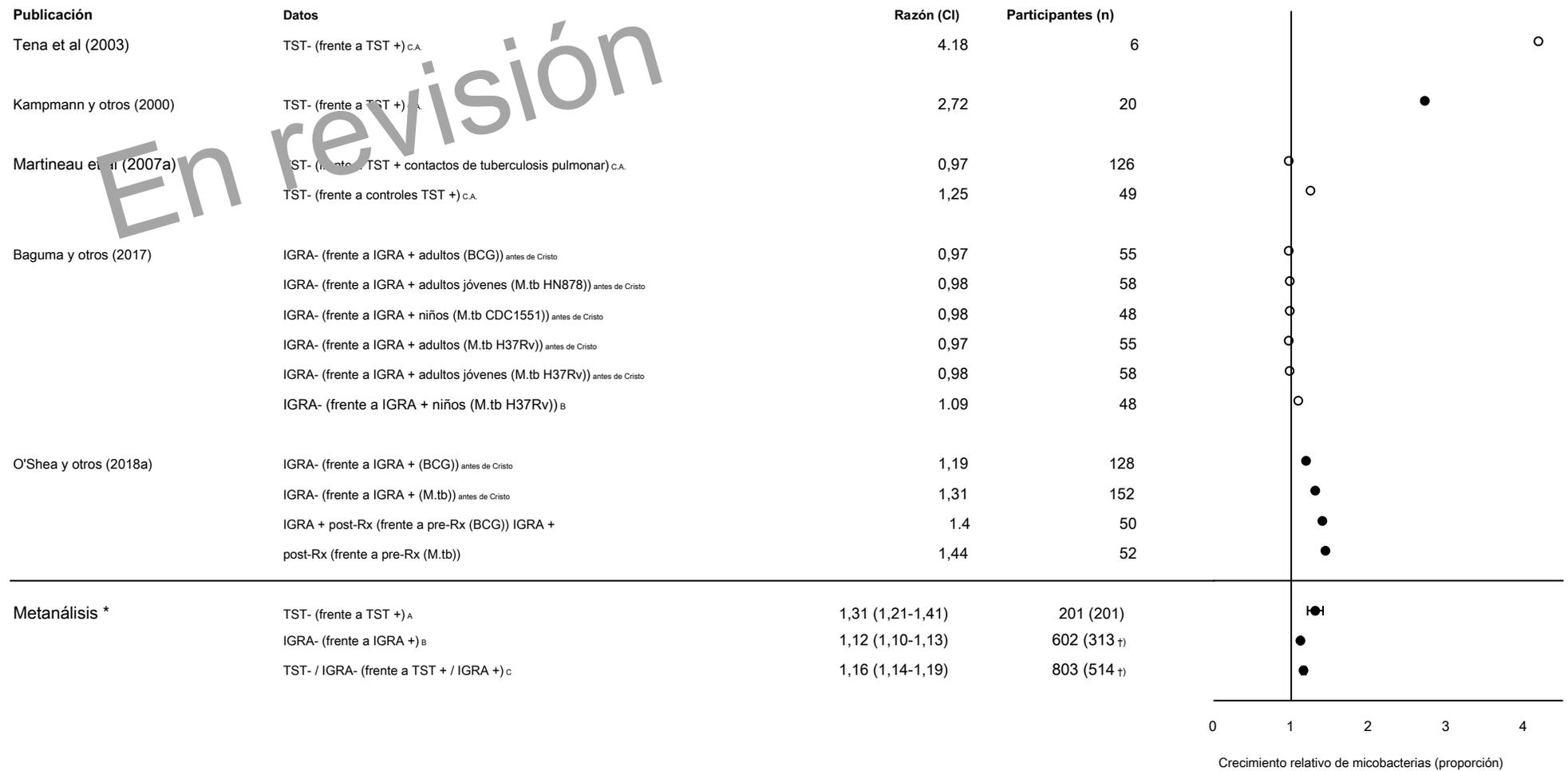


Figura 2D. Proporciones relativas de crecimiento de micobacterias de las comparaciones realizadas en estudios de infección por tuberculosis. † Aproximación de la población

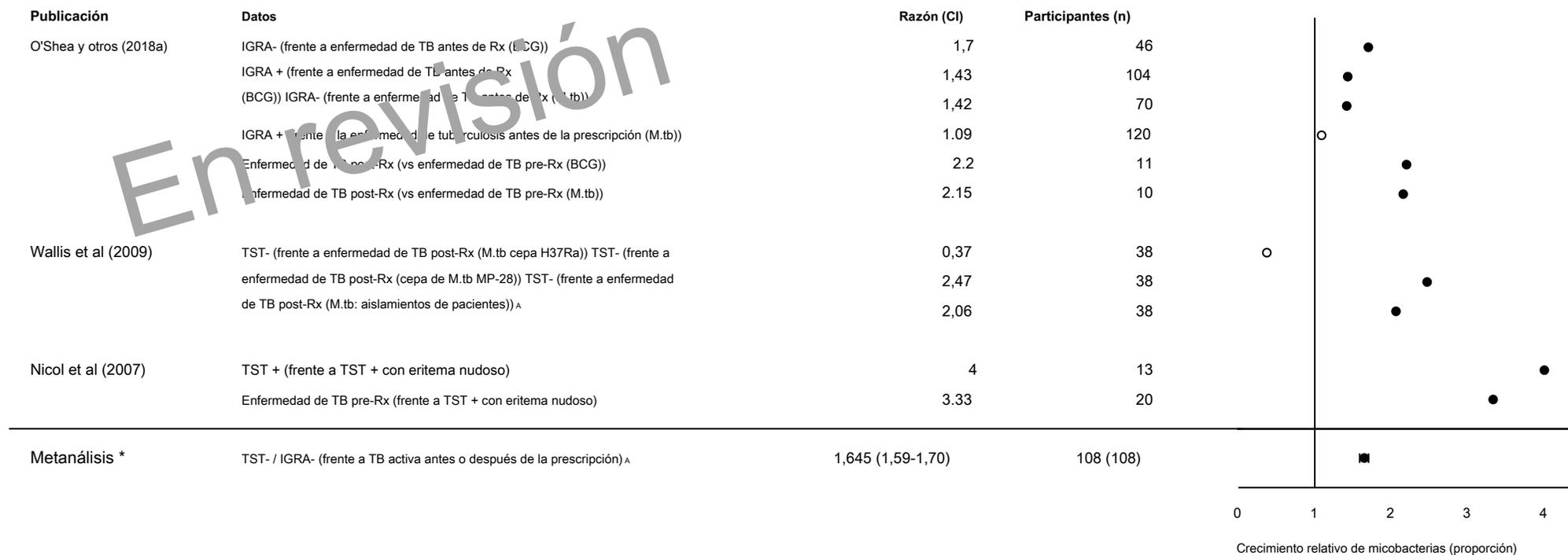


Figura 2E. Razones de crecimiento relativo de micobacterias de las comparaciones realizadas en estudios de la enfermedad de tuberculosis.

Nota al pie de la figura 2: Tenga en cuenta que una mayor tasa de crecimiento relativo de micobacterias indica un mayor crecimiento de micobacterias, por lo que puede interpretarse como una susceptibilidad relativa a la infección por micobacterias en los participantes enumerados sin paréntesis (en comparación con los participantes enumerados entre paréntesis). Los círculos rellenos indican $P < 0,05$. La metodología del intervalo de confianza y la media del metanálisis se explica en los Métodos. BCG indica Bacille Calmette Guerin. IGRA indica el ensayo de liberación de interferón- γ . * Las comparaciones incluidas en el metanálisis están marcadas con la letra correspondiente (A, B, C).

Tabla 2. Características del estudio. Tenga en cuenta que 'N' indica la población de estudio (incluidas aquellas que no completaron el seguimiento, en los casos en que esto sea aplicable). También tenga en cuenta que el orden de las publicaciones en esta tabla, y en la Tabla 3 y 4, es consistente con la Tabla 1A y 1B.

Publicación	norte	Participantes	Configuración	Diseño del estudio	Estadística reportada
Cheon et al (2002) Hoft	10	Adultos sanos	San Luis, Estados Unidos	Longitudinal	Media (desviación estándar)
et al (2002)	10	Adultos sanos	San Luis, Estados Unidos	Longitudinal	Mediana (rango del 50%, rango sin valores atípicos) Mediana
Kampmann et al (2004)	35	Recién nacidos sanos	Ciudad del Cabo, Sudáfrica	Longitudinal	(rango)
Fletcher et al (2011)	18	Adultos sanos	Reino Unido	Transversal / longitudinal	Mediana (la más baja de 25 th cuartil, el más alto de 75 th cuartila)
Martineau et al (2007b) Eisen	131	Contactos adultos con TB	Reino Unido	Media del ensayo controlado aleatorio (intervalo de confianza de la diferencia de grupo)	
et al (2013)	62	Adultos sanos	Lima, Perú (baja altitud) Cusco, Perú (gran altitud)	Transversal / longitudinal	Mediana (rango intercuartílico)
Kampmann et al (2006) Tena	15	Niños infectados por el VIH y vacunados con BCG	Ciudad del Cabo, Sudáfrica Ciudad	Longitudinal	Mediana (rango)
et al (2003)	22 24	Niños infectados por el VIH Niños no infectados por el VIH	del Cabo, Sudáfrica	Transversal	Mediana (rango)
Kampmann et al (2000)	20	Adultos sanos	Reino Unido	Transversal	Mediana (rango)
Martineau et al (2007a)	126 49	Contactos adultos con TB Adultos sanos	Londres, Reino Unido	Transversal	Media (desviación estándar)
Baguma y otros (2017)	161	Niños y adultos vacunados con BCG	Provincia del Cabo Occidental, Sudáfrica	Transversal	Mediana (rango intercuartílico, rango)
O'Shea y otros (2018a)	19 101 51	Pacientes con tuberculosis activa Pacientes con ITBL adultos sanos	Reino Unido, varias ubicaciones	Transversal / longitudinal	Media (desviación estándar)
Wallis et al (2009)	32 6	Pacientes con tuberculosis curada Adultos sanos	Vitória, Brasil (pacientes con tuberculosis) Newark, EE. UU. (Controles)	Transversal	Significar
Nicol et al (2007)	5 15 8	Niños con eritema nudoso Niños con TB activa Niños sanos con TST positivo	Ciudad del Cabo, Sudáfrica	Transversal	Mediana
O'Shea y otros (2018b)	22	Migrantes adultos sanos de Nepal	Reino Unido	Transversal / longitudinal	Media (desviación estándar)

Tabla 3. Metodología del ensayo. Nota MOI indica la multiplicidad de infección expresada como el número de monocitos que se estima que están presentes en el ensayo por unidad formadora de colonias de micobacterias. RLU = unidades de luz relativas; GI = índice de crecimiento; CFU = unidades formadoras de colonias; BCG = bacilo de Calmette-Guerrin; MOI = multiplicidad de infección, micobacterias por macrófago; * Duplicado en Brasil, single en USA

Publicación	Cálculo de crecimiento	Ensayo escribe	MOI	Concentración	Volumen por ensayo (ml)	Medios agregados por volumen de sangre	Tiempo de incubación (h)	Réplicas	Controles de ensayo
Cheon y col. 2002	$\Delta \log_{10} \text{CFU} = \text{registro}_{10} (\text{final}) - \text{registro}_{10} (\text{inicial})$	MGIT	NR	10.000 UFC / ml (100.000 RLU / ml)	0,6	RPMI 1: 1 + glutamina + HEPES 25 mM	96	2	Micobacteriana directa simultánea inoculación del tubo MGIT No se
Hoft y col. 2002	Índice de inhibición micobacteriana = (RLU en el día 0 o día 3 o día 4 después de BCG) / RLU en el día 3 o día 4 después de BCG / (RLU en el día 0 o día 3 o día 4 después de BCG) / RLU después de BCG)	BCG-lux	NR	10.000 UFC / ml (100.000 RLU / ml)	1	RPMI 1: 2	96	3	informó
Kampmann et al 2004	Razón de crecimiento = RLU en T ₉₆ / RLU en T ₀	BCG-lux	NR	1.000.000 UFC / ml (10.000.000 RLU / ml)	1	RPMI 1: 1	96	3	Ninguno reportado
Fletcher y col. 2013	$\Delta \log_{10} \text{UFC por día} = \log ((\text{UFC de muestra en T}_{96} / \text{CFU de control en T}_{96}) / 4)$	MGIT	NR	150 UFC en 600 μl	0,6	RPMI 1: 1	96	2	Micobacteriana directa simultánea inoculación de tubo MGIT (duplicado)
Martineau et al 2007b	Relación de luminiscencia = RLU en T ₂₄ o T ₉₆ / RLU en T ₀	BCG-lux	1	300.000 UFC / ml	1	RPMI 1: 1 + glutamina 2 mM + HEPES 25 mM	96	3	Ninguno reportado
Eisen y col. 2013	(RLU en T ₉₆ - RLU en T ₀) / RLU de caldo de cultivo	BCG-lux	30	10.000 UFC / ml (100.000 RLU / ml), 200 μl de sangre en cada una de las pruebas cuádruples	1	1: 1 RPMI + 1% HEPES	72	4	Caldo 7H9 suplementado; plasma
Kampmann et al 2006	Razón de crecimiento = RLU en T ₉₆ / RLU en T ₀	BCG-lux	NR	1.000.000 UFC / ml (10.000.000 RLU / ml)	1	RPMI 1: 1	96	3	Ninguno reportado
Tena et al 2003	Razón de crecimiento = RLU en T ₉₆ / RLU en T ₀	BCG-lux	NR	1.000.000 UFC / ml (10.000.000 RLU / ml)	1	RPMI 1: 1	96	3	Ninguno reportado
Kampmann et al 2000	Razón de crecimiento = (RLU en T ₉₆ - RLU en T ₀) / (RLU en T ₀)	BCG-lux	NR	10.000 UFC / ml (100.000 RLU / ml)	1	RPMI 1: 1 + L-glutamina al 1% y heparina	96	3	Plasma
Martineau et al 2007a	Relación de luminiscencia = RLU en T ₉₆ / RLU en T ₀	BCG-lux	1	300.000 UFC / ml	1	RPMI 1: 1 + glutamina 2 mM + HEPES 25 mM	96	3	Ninguno reportado
Baguma y col. 2017	$\Delta \log_{10} \text{CFU} = \text{registro}_{10} (\text{final}) - \text{registro}_{10} (\text{inicial})$	MGIT	NR	8.500 - 2.4000 UFC / ml 150	0,6	RPMI 1: 1	96	2	Micobacteriana directa simultánea inoculación de tubo MGIT
O'Shea y col. 2018a	Razón de crecimiento = $\log_{10} (\text{UFC de muestra} / \text{UFC de control})$	MGIT	NR	UFC / 600 μl	0,6	RPMI 1: 1 que contiene 10% de suero humano combinado + L-glutamina 2 mM y cultivo de tejidos HEPES 1: 1 25 mM	96	2	Micobacteriana directa simultánea inoculación de tubo MGIT (duplicado)
Wallis y col. 2009	$\Delta \log_{10} \text{CFU} = \text{registro}_{10} (\text{final}) - \text{registro}_{10} (\text{inicial})$ Razón de	MGIT	NR	10.000 UFC / ml (100.000 RLU / ml)	0,6	medio	72	2/1 *	Micobacteriana directa simultánea inoculación del tubo MGIT No se
Nicol y col. 2007	crecimiento = RLU en T ₉₆ / RLU en T ₀	BCG-lux	NR	1.000.000 UFC / ml (10.000.000 RLU / ml)	1	RPMI 1: 1	96	3	informó
O'Shea y col. 2018b	Razón de crecimiento = $\log_{10} (\text{UFC de muestra} / \text{UFC de control})$	MGIT	NR	150 UFC / 600 μl	0,6	RPMI 1: 1 que contiene 10% de suero humano combinado + L-glutamina 2 mM y HEPES 25 mM	96	2	Micobacteriana directa simultánea inoculación de tubo MGIT (duplicado)

Tabla 4. Calidad del estudio

Publicación	Objetivo 1	Población 2	Participación 3	Reclutamiento 4	Tamaño de la muestra 5	Exposición medición 6	Período tiempo 7	Exposición nivel 8	Exposición validez 9	Exposición juzgado 10	Salir validez 11	Cegador 12	Pérdida a seguir hasta 13	Ajustamiento confusores 14	Calificación a
Cheon et al 2002 Hoft et al 2002	sí	No	NR	NR	No	sí	sí	sí	sí	N/A	N/A	NR	N/A	No	Justa
Kampmann et al 2004	sí	No	NR	NR	No	sí	No	N/A	sí	N/A	N/A	NR	N/A	No	Justa
Fletcher et al 2013 Martineau et al 2007b	sí	No	NR	NR	No	sí	sí	sí	No	N/A	N/A	NR	N/A	No	Pobre
Eisen et al 2013	sí	No	NR	NR	No	sí	sí	No	sí	N/A	N/A	NR	N/A	No	Justa
Kampmann et al 2006 Tena et al 2003	sí	sí	NR	sí	No	sí	sí	N/A	sí	No	N/A	NR	N/A	No	Justa
Kampmann et al 2000	sí	No	NR	NR	No	sí	sí	N/A	sí	No	N/A	NR	N/A	No	Justa
Martineau et al 2007a c	N/A	sí	sí	sí	No	sí	sí	N/A	sí	No	N/A	NR	N/A	sí	Justa c
Baguma et al 2017	sí	No	NR	NR	No	sí	sí	N/A	sí	No	N/A	NR	N/A	No	Justa
O'Shea et al 2018a	sí	No	NR	NR	No	sí	sí	sí	sí	No	N/A	NR	N/A	No	Bien
Wallis et al 2009 Nicol et al 2007 O'Shea et al 2018b	sí	No	NR	No	No	sí	sí	N/A	sí	No	N/A	NR	N/A	No	Pobre
	sí	No	NR	NR	No	sí	sí	N/A	No	No	N/A	NR	N/A	No	Pobre
	sí	sí	NR	sí	No	sí	sí	N/A	sí	No	N/A	NR	NR	No	Justa

a Los números se refieren a las siguientes preguntas que forman parte de la herramienta de evaluación de calidad del Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre (NHLBI) para estudios de cohortes observacionales y transversales:

1. ¿La pregunta de investigación o el objetivo de este artículo se expresaron claramente?
2. ¿Se especificó y definió claramente la población de estudio?
3. ¿La tasa de participación de las personas elegibles fue al menos del 50%?
4. ¿Todos los sujetos fueron seleccionados o reclutados de la misma población o de poblaciones similares (incluido el mismo período de tiempo)? ¿Se preespecificaron los criterios de inclusión y exclusión para participar en el estudio y se aplicaron de manera uniforme a todos los participantes?
5. ¿Se proporcionó una justificación del tamaño de la muestra, una descripción de la potencia o estimaciones de varianza y efecto?
6. Para los análisis de este documento, ¿se midieron las exposiciones de interés antes de que se midieran los resultados?
7. ¿Fue el plazo suficiente para que uno pudiera esperar razonablemente ver una asociación entre la exposición y el resultado si existiera?
8. Para exposiciones que pueden variar en cantidad o nivel, ¿examinó el estudio diferentes niveles de exposición en relación con el resultado (por ejemplo, categorías de exposición o exposición medida como variable continua)?
9. ¿Las medidas de exposición (variables independientes) estaban claramente definidas, eran válidas, confiables y se implementaron de manera consistente en todos los participantes del estudio?
10. ¿Se evaluaron las exposiciones más de una vez a lo largo del tiempo?
11. ¿Las medidas de resultado (variables dependientes) estaban claramente definidas, eran válidas, confiables y se implementaron de manera consistente en todos los participantes del estudio?
12. ¿Los evaluadores de resultados estaban cegados al estado de exposición de los participantes?
13. ¿Las pérdidas durante el seguimiento después del valor inicial fueron del 20% o menos?
14. ¿Se midieron y ajustaron estadísticamente las posibles variables de confusión clave por su impacto en la relación entre exposición (es) y resultado (s)? Posibles respuestas: Sí; No; CD, no se puede determinar; NA, no aplicable; NR, no informado

a Posibles calificaciones: buena, regular, mala

c La calificación de esto se aplica a la calidad de los datos extraídos para esta revisión sistemática, no a la calidad del estudio principal.

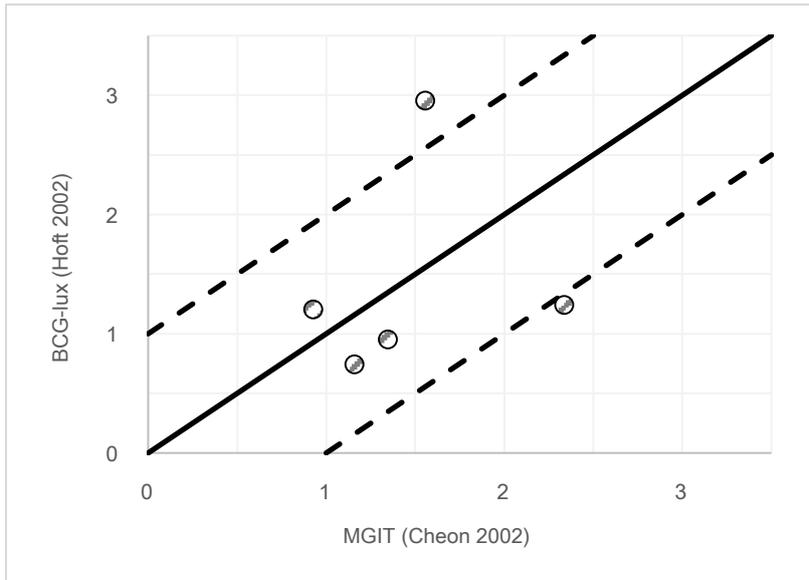


Figura 3A. Crecimiento relativo de micobacterias (proporciones) de estudios de vacunación con BCG utilizando la misma población pero diferentes ensayos. La línea continua no representa ninguna diferencia entre los resultados del ensayo. Las líneas de puntos representan una diferencia de 2 veces entre los resultados del ensayo.

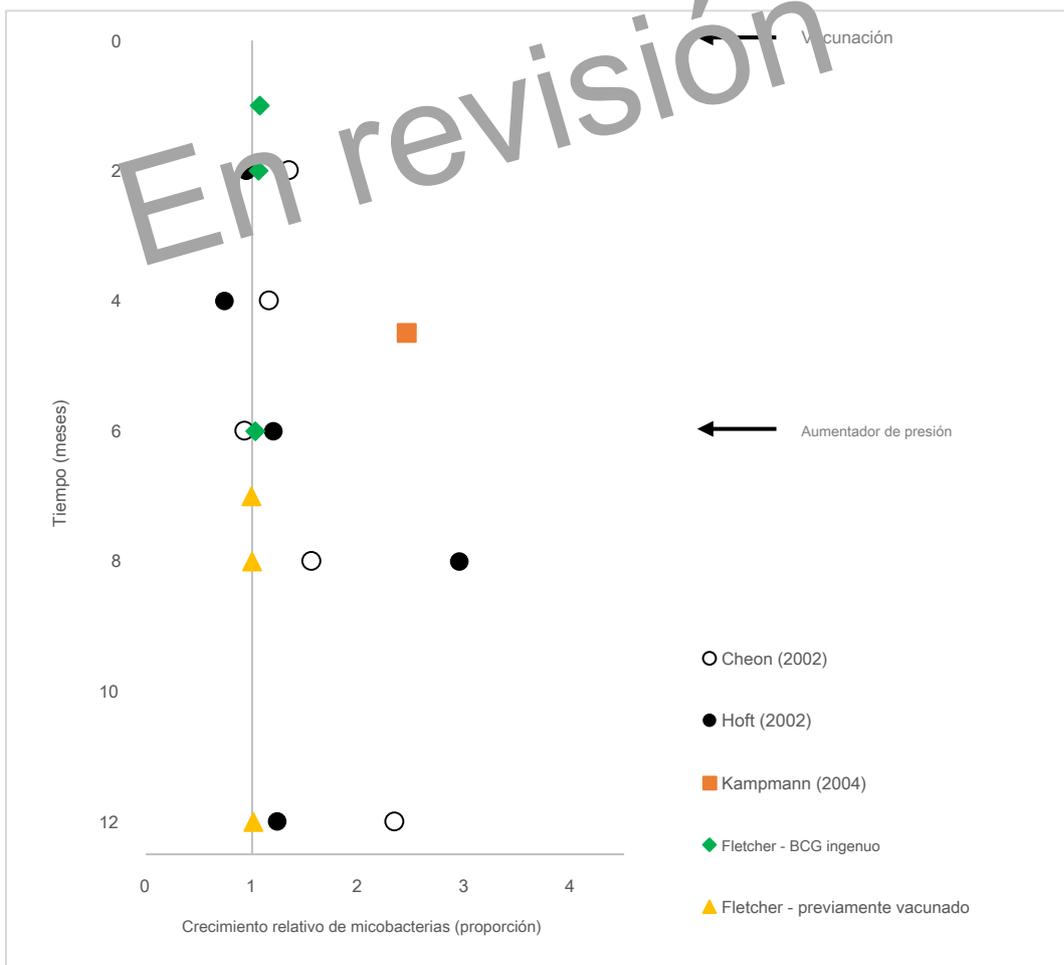


Figura 3B. Crecimiento relativo de micobacterias (proporciones) de los estudios de vacunación con BCG por mes después de la vacunación

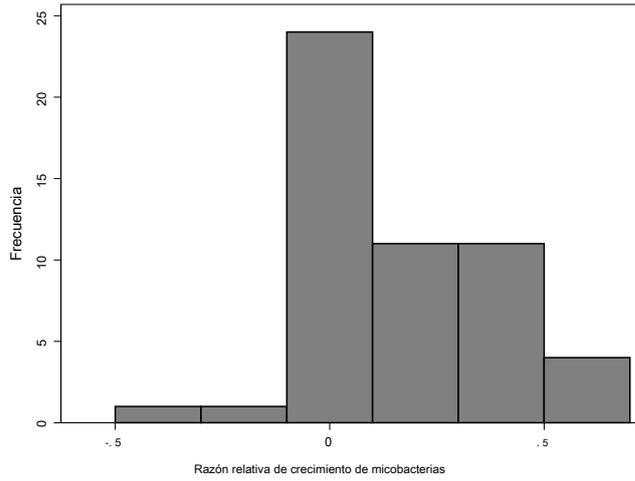


Figura 3C. Histograma de registro ₁₀ de proporciones relativas de crecimiento de micobacterias. Tenga en cuenta que esto se refiere a las proporciones que se presentan en la Figura 2A-E

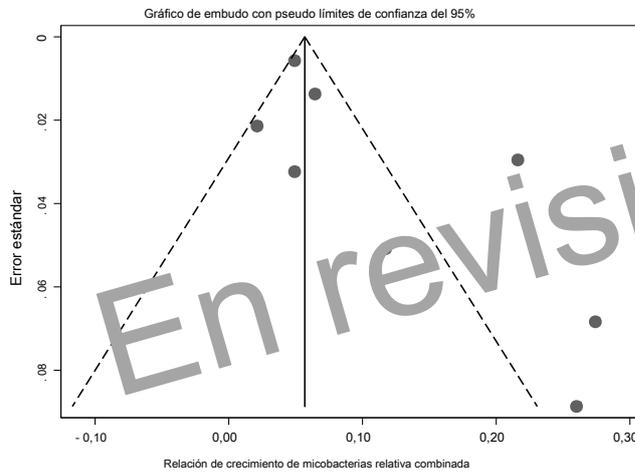


Figura 3D. Gráfico de pseudo-embudo (ver Métodos)

Estrategia de búsqueda electrónica completa para PubMed:

(micobacterias [Título / Resumen] O micobacterias [Título / Resumen] O micobacterias [Título / Resumen] O tuberculosis [Título / Resumen] O BCG [Título / Resumen])

Y

(crecimiento de micobacterias [título / resumen] O inhibición del crecimiento [título / resumen] O inmunidad micobacteriana [título / resumen] O inmunidad antimicobacteriana [título / resumen] O MGIA [título / resumen]) Y

(ensayo [Título / Resumen] O in vitro [Título / Resumen] O sangre total [Título / Resumen] O macrófagos [Título / Resumen] O macrófagos [Título / Resumen])

Estrategia de búsqueda electrónica completa para Embase:

(micobacterias: ti: ab: kw O micobacterias: ti: ab: kw O micobacterias: ti: ab: kw O tuberculosis: ti: ab: kw O BCG: ti: ab: kw)

Y

('crecimiento micobacteriano': ti: ab: kw O 'inhibición del crecimiento': ti: ab: kw O 'inmunidad micobacteriana': ti: ab: kw O 'inmunidad antimicobacteriana': ti: ab: kw O MGIA: ti: ab: kw)

Y

(ensayo: ti: ab: kw O 'in vitro': ti: ab: kw O 'sangre completa': ti: ab: kw O macrófagos: ti: ab: kw O macrófagos: ti: ab: kw)

El protocolo de revisión sistemática

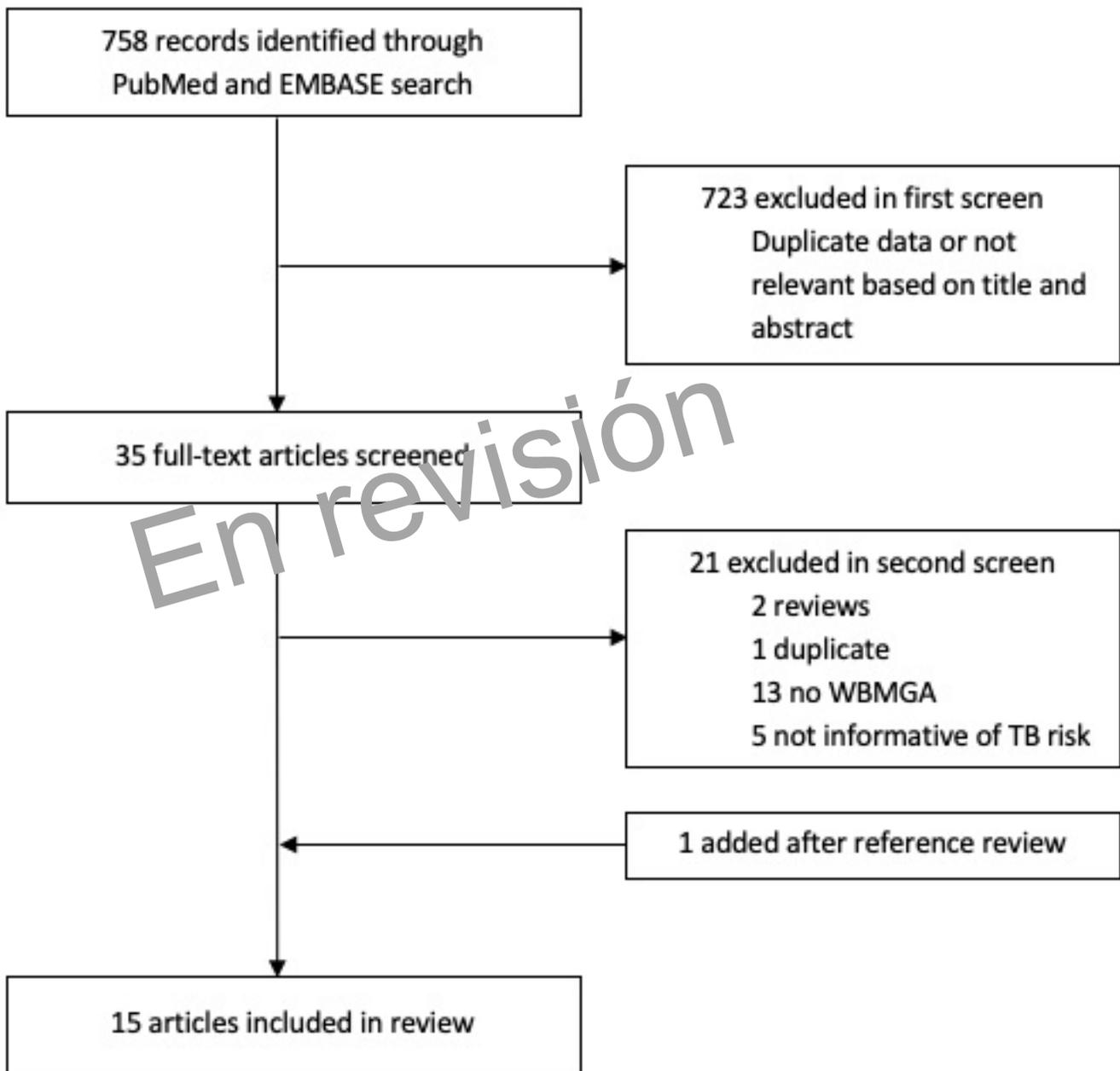
está disponible en este enlace: http://www.ifhad.org/wp-content/uploads/2019/03/WBMGA_review_protocol.pdf

La revisión sistemática y el registro de metaanálisis

Está disponible en este enlace: http://www.ifhad.org/wp-content/uploads/2019/03/Systematic_review_metaanalysis_registration_submitted_to_PROSPERO.pdf

El servicio PROSPERO de la Universidad de York no publicó este registro en su sistema en línea porque la extracción de datos piloto ya había comenzado en el momento de la presentación.

Figure 1. Flow chart of paper selection



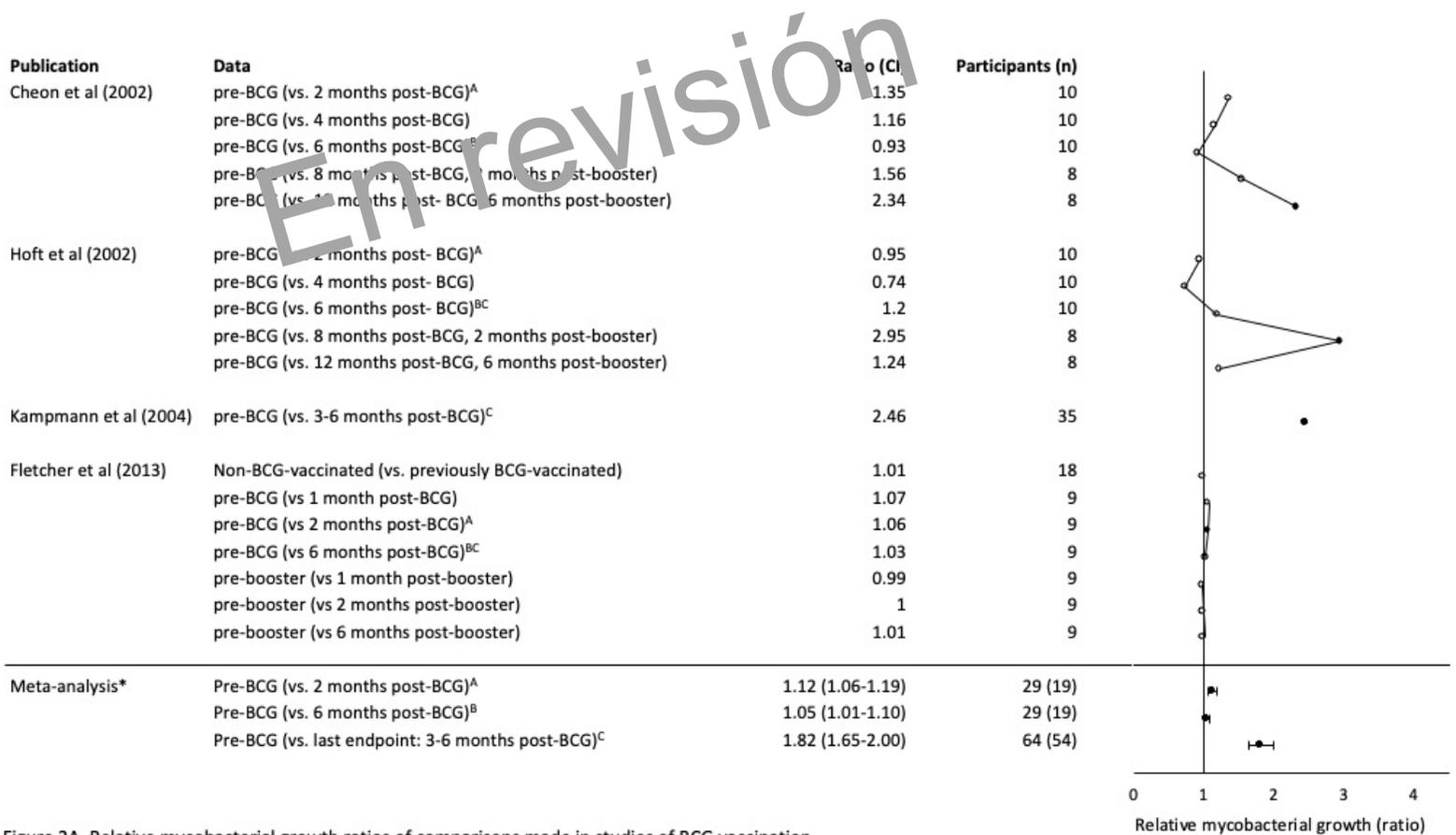


Figure 2A. Relative mycobacterial growth ratios of comparisons made in studies of BCG vaccination.

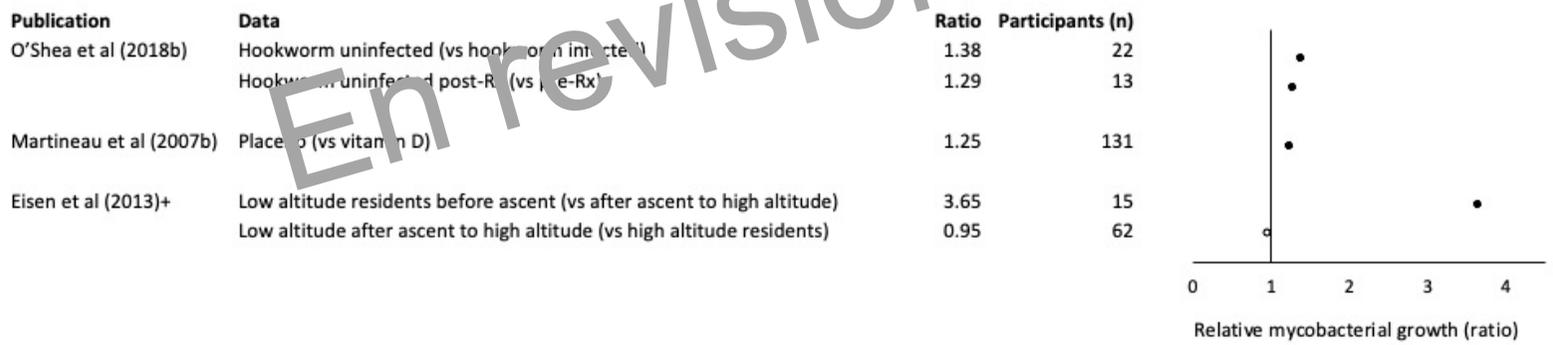


Figure 2B. Relative mycobacterial growth ratios of comparisons made in studies of parasitism, vitamin D, and altitude, respectively.

+Note the Eisen et al (2013) considered growth relative to control samples to adjust for altitude effects on mycobacterial growth.

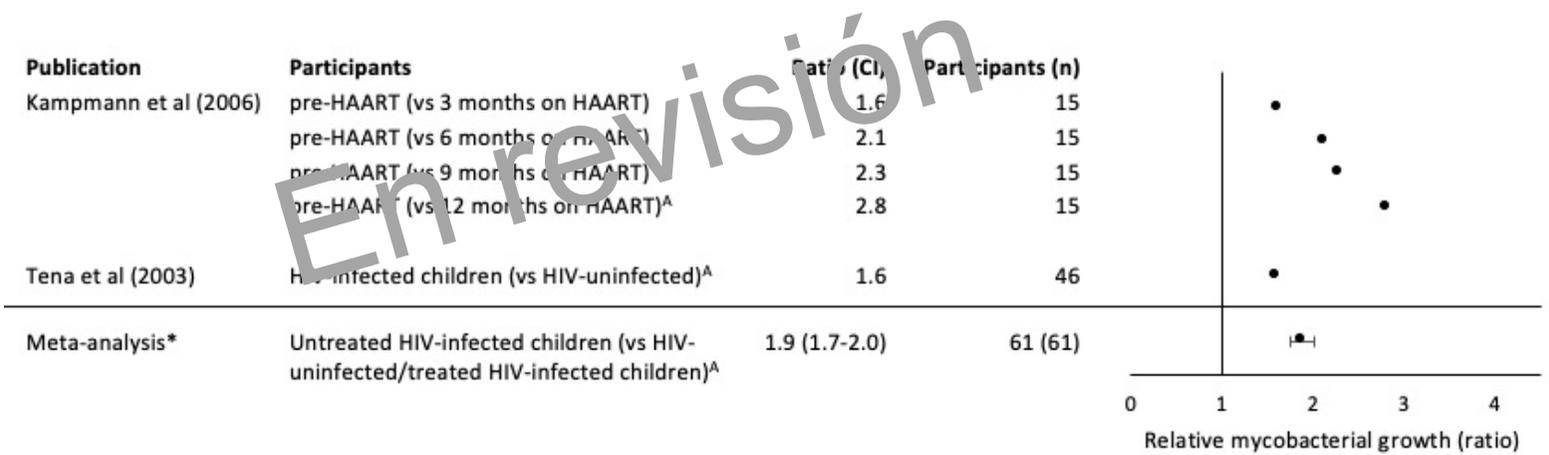


Figure 2C. Relative mycobacterial growth ratios of comparisons made in studies of HIV and its treatment.

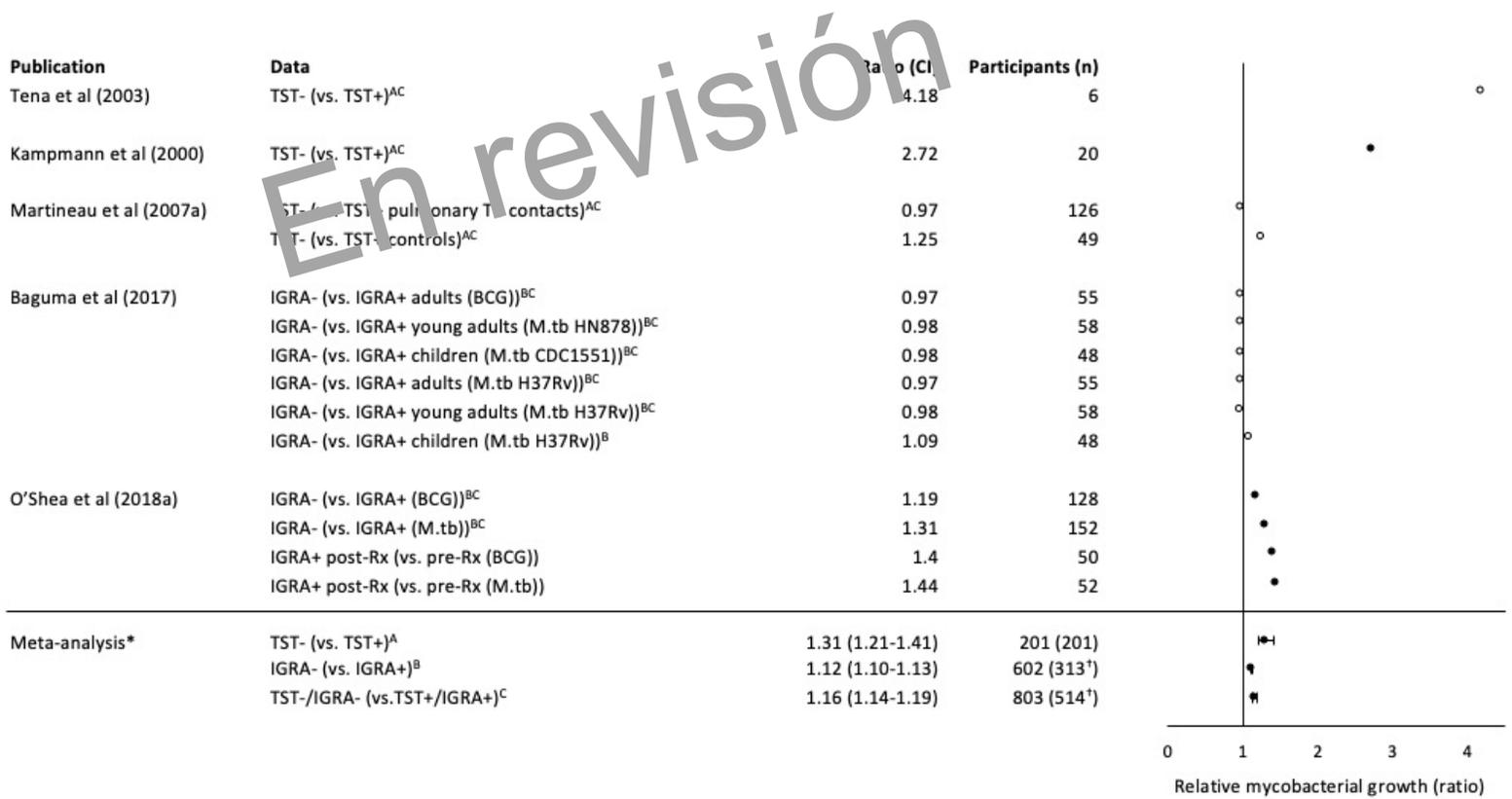


Figure 2D. Relative mycobacterial growth ratios of comparisons made in studies of TB infection. †Approximation of population

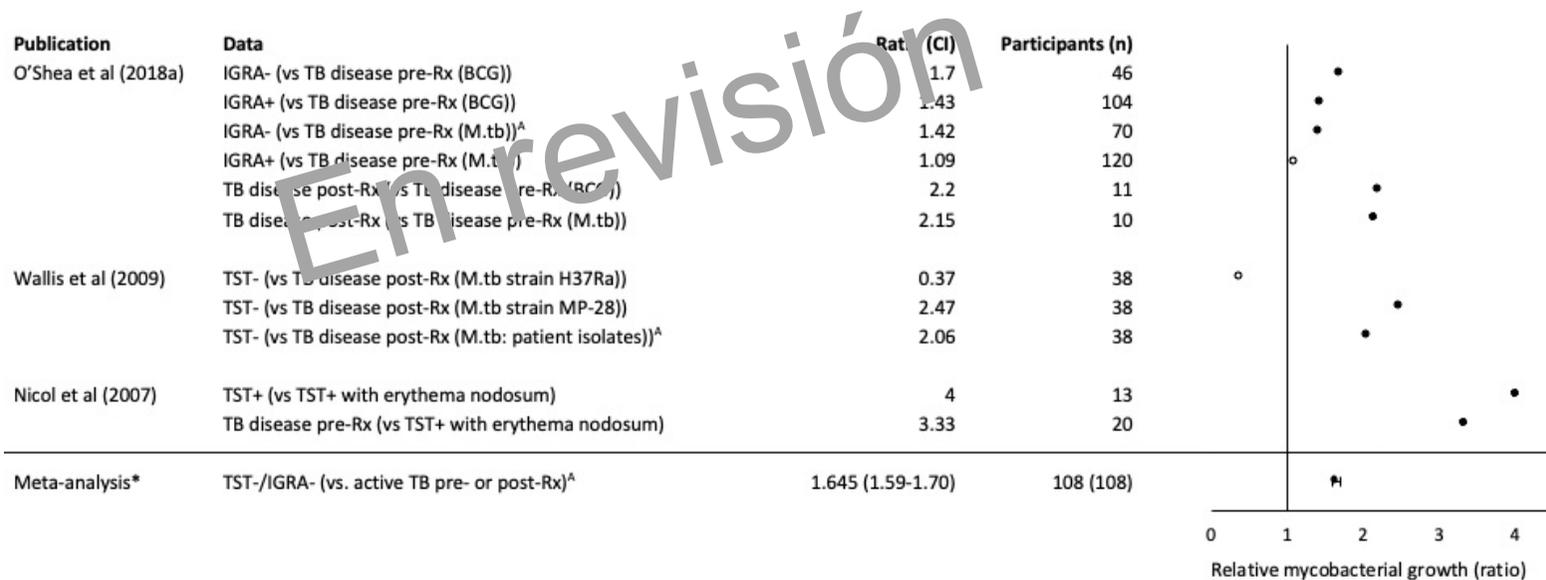


Figure 2E. Relative mycobacterial growth ratios of comparisons made in studies of TB disease.

Figure 2 footnote: Note that higher relative mycobacterial growth ratio indicates greater mycobacterial growth so may be interpreted as implying relative susceptibility to mycobacterial infection in the participants listed without parentheses (compared with the participants listed in parentheses). Filled circles indicate P<0.05. Meta-analysis mean and confidence interval methodology are explained in the Methods. BCG indicates Bacille Calmette Guerin. IGRA indicates the Interferon- γ release assay. *Comparisons included in the meta-analysis are marked with the corresponding letter (A, B, C).

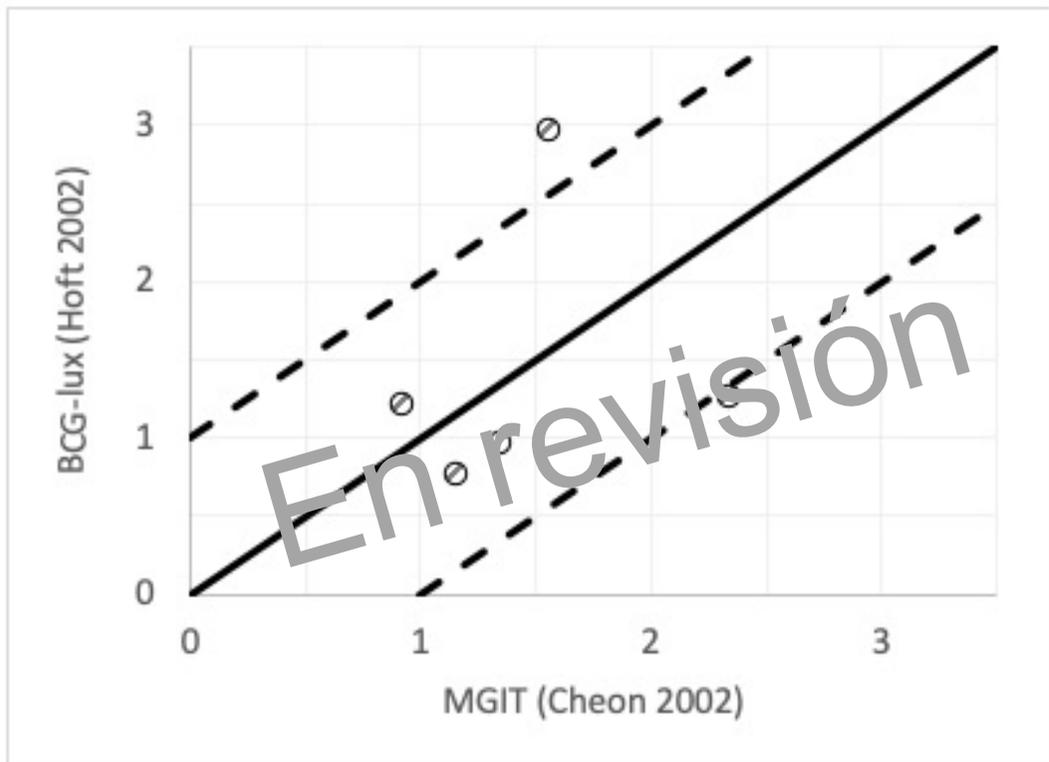


Figure 3A. Relative mycobacterial growth (ratios) of BCG vaccination studies using the same population but different assays. The solid line represents no difference between assay results. The dotted lines represent a 2-fold difference between assay results.

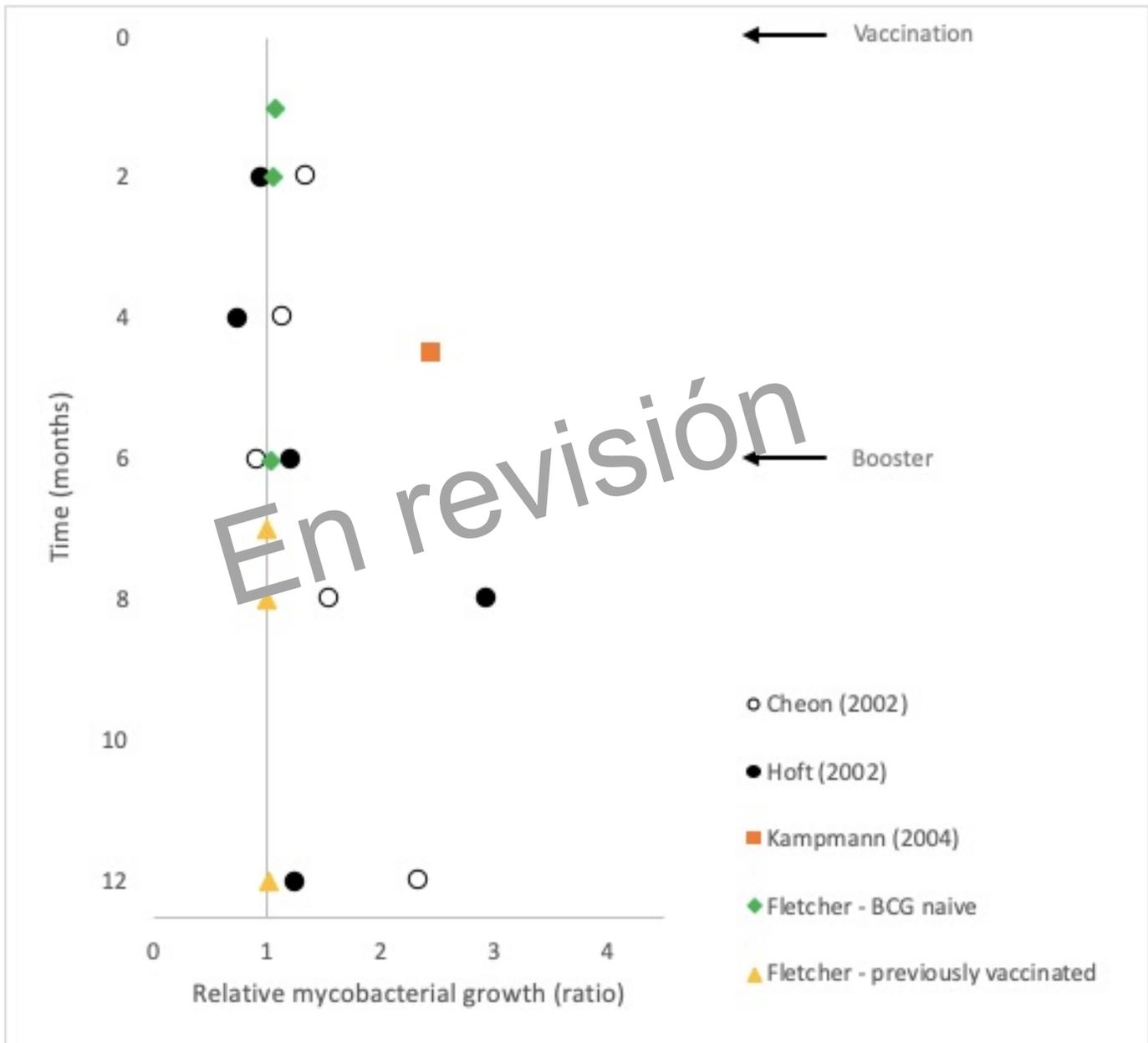


Figure 3B. Relative mycobacterial growth (ratios) of BCG vaccination studies per month post-vaccination

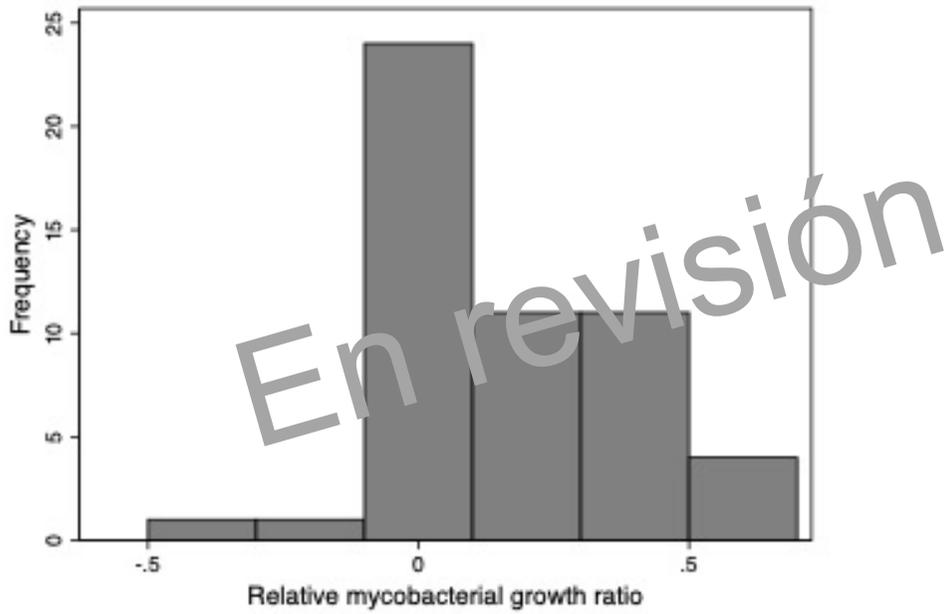


Figure 3C. Histogram of log₁₀ of relative mycobacterial growth ratios. Note this refers to the ratios as presented in Figure 2A-E

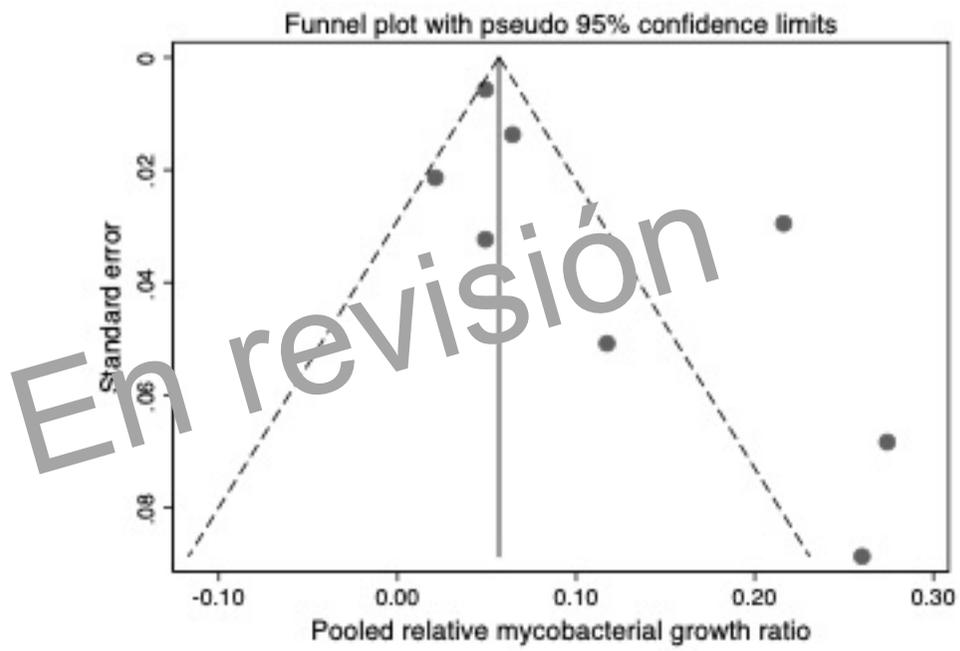


Figure 3D. Pseudo-funnel plot (see Methods)

Table 1A. Overview of factors decreasing TB susceptibility and their association with less mycobacterial growth in WBMGA.

Category	Publication	Study group vs comparator	Bacteria†	P-value
TB risk	-	No studies predicting risk of infection or disease	NA	NA
BCG vaccination	Cheon et al 2002	After primary vaccination (vs pre-vaccination)	BCG-lux [^]	NS
		After booster (vs pre-vaccination)	BCG-lux [^]	*
	Hoft et al 2002	After primary vaccination (vs pre-vaccination)	BCG-lux	NS
		After booster (vs pre-vaccination)	BCG-lux	*
	Kampmann et al 2004	After primary vaccination (vs pre-vaccination)	BCG-lux	*
	Fletcher et al 2013	Previously vaccinated (vs unvaccinated)	BCG	NS
		After primary vaccination (vs pre-vaccination)	BCG	*
After booster (vs pre-booster)		BCG	NS	
Vitamin D	Martineau et al 2007b	Vitamin D supplemented (vs placebo)	BCG-lux	*
Altitude	Eisen et al 2013	High- (vs low-) altitude residents at high altitude	BCG-lux	NS
		Before (vs after) ascent for low altitude residents	BCG-lux	*
HIV sero-negativity /therapy	Kampmann et al 2006	After starting HAART treatment (vs pre-HAART)	BCG-lux	*
	Tena et al 2003	HIV-uninfected (vs HIV-infected children (without HAART))	BCG-lux	*

†Growth of BCG-lux mycobacteria is measured using a BCG-lux assay, except in the study by Cheon, where an MGIT assay was used

* Any comparison was statistically significant

NS Not statistically significant comparison

NA Statistical testing not available

Table 1B. Overview of results of factors likely affecting TB susceptibility (but without consensus on whether they would increase or decrease susceptibility) and their association with less mycobacterial growth in WBMGA.

Category	Publication	Study group vs comparator	Bacteria	P-value
TB infection	Tena et al 2003	TST+ (vs TST-)	BCG-lux	NA
	Kampmann et al 2000	TST+ (vs TST-)	BCG-lux	*
	Martineau et al 2007a	TST+ (vs TST-)	BCG-lux	NS
	Baguma et al 2017	IGRA+ (vs IGRA-)	BCG H37Rv HN878 CDC1551	NS
		IGRA+ (vs IGRA-)	BCG M.tb	**
		IGRA+ pre-Rx (vs IGRA+ post-Rx)	BCG M.tb	**
TB disease	O'Shea et al 2018a	TB disease (vs IGRA-)	BCG M.tb	**
		TB disease (vs IGRA+)	BCG M.tb	*
		TB disease pre-Rx (vs cured TB disease)	BCG M.tb	**
	Wallis et al 2009	Cured TB disease (vs TST-)	Own§ MP28 H37RA	*
	Nicol et al 2007	Erythema nodosum/TST+ (vs TB disease)	BCG-lux	*
Parasitism	O'Shea et al 2018b	Hookworm infected (vs uninfected)	H37Rv	*
		Hookworm infected pre- (vs post-) Rx	H37Rv	*

Own§ indicates the *M. tuberculosis* strain that caused the participant's disease

* Any comparison was statistically significant

** All of multiple comparisons were statistically significant

NS Not statistically significant comparison

NA Statistical testing not available

IGRA indicates the Interferon- γ release assay.

Table 2. Study characteristics. Note that 'N' indicates the study population (including those that did not complete follow-up, in cases where this is applicable). Also note that the order of the publications in this table, and in Table 3 and 4, is consistent with Table 1A and 1B.

Publication	N	Participants	Setting	Study design	Reported statistic
Cheon et al (2002)	10	Healthy adults	St. Louis, USA	Longitudinal	Mean (standard deviation)
Hoft et al (2002)	10	Healthy adults	St. Louis, USA	Longitudinal	Median (50% range, non-outlier range)
Kampmann et al (2004)	35	Healthy neonates	Cape Town, South Africa	Longitudinal	Median (range)
Fletcher et al (2013)	18	Healthy adults	United Kingdom	Cross-sectional/ longitudinal	Median (lowest of 25 th quartile, highest of 75 th quartile)
Martineau et al (2007b)	131	Adult TB contacts	United Kingdom	Randomized controlled trial	Mean (confidence interval of group difference)
Eisen et al (2013)	62	Healthy adults	Lima, Peru (low altitude) Cusco, Peru (high altitude)	Cross-sectional/ longitudinal	Median (interquartile range)
Kampmann et al (2006)	15	HIV-infected, BCG-vaccinated children	Cape Town, South Africa	Longitudinal	Median (range)
Tena et al (2003)	22 24	HIV-infected children HIV-uninfected children	Cape Town, South Africa	Cross-sectional	Median (range)
Kampmann et al (2000)	20	Healthy adults	United Kingdom	Cross-sectional	Median (range)
Martineau et al (2007a)	126 49	Adult TB contacts Healthy adults	London, United Kingdom	Cross-sectional	Mean (standard deviation)
Baguma et al (2017)	161	BCG-vaccinated children and adults	Western Cape Province, South Africa	Cross-sectional	Median (interquartile range, range)
O'Shea et al (2018a)	19 101 51	Active TB patients LTBI patients healthy adults	United Kingdom, various locations	Cross-sectional/ longitudinal	Mean (standard deviation)
Wallis et al (2009)	32 5	Cured TB patients Healthy adults	Vitória, Brazil (TB patients) Newark, USA (controls)	Cross-sectional	Mean
Nicol et al (2007)	5 15 8	Children with erythema nodosum Children with active TB Healthy TST-positive children	Cape Town, South Africa	Cross-sectional	Median
O'Shea et al (2018b)	22	Healthy adult migrants from Nepal	United Kingdom	Cross-sectional/ longitudinal	Mean (standard deviation)

Table 3. Assay methodology. Note MOI indicates the multiplicity of infection stated as the number of monocytes estimated to be present in the assay per colony forming unit of mycobacteria. RLU=relative light units; GI=growth index; CFU=colony forming unit; BCG=bacille Calmette-Guerrin; MOI= Multiplicity of Infection, mycobacteria per macrophage; *Duplicate in Brazil, single in USA

Publication	Growth calculation	Assay type	MOI	Concentration	Volume per assay (ml)	Media added per volume of blood	Incubation time (h)	Replicates	Assay controls
Cheon et al 2002	$\Delta \log_{10} \text{CFU} = \log_{10}(\text{final}) - \log_{10}(\text{initial})$	MGIT	NR	10,000 CFU/ml (100,000 RLU/ml)	0.6	1:1 RPMI + glutamine + 25 mM HEPES	96	2	Simultaneous direct mycobacterial inoculation of MGIT tube
Hoft et al 2002	Mycobacterial inhibition index = (RLU at pre-BCG day 3 or day 4 / RLU at pre-BCG day 0) / (Post-BCG day 3 or day 4 RLU / post-BCG day 0 RLU)	BCG-lux	NR	10,000 CFU/ml (100,000 RLU/ml)	1	1:2 RPMI	96	3	None reported
Kampmann et al 2004	Growth ratio = RLU at T_{96} / RLU at T_0	BCG-lux	NR	1,000,000 CFU/ml (10,000,000 RLU/ml)	1	1:1 RPMI	96	3	None reported
Fletcher et al 2013	$\Delta \log_{10} \text{CFU per day} = \log((\text{CFU of sample at } T_{96} / \text{CFU of control at } T_{96}) / 4)$	MGIT	NR	150 CFU in 600 μl	0.6	1:1 RPMI	96	2	Simultaneous direct mycobacterial inoculation of MGIT tube (duplicate)
Martineau et al 2007b	Luminescence ratio = RLU at T_{24} or T_{96} / RLU at T_0	BCG-lux	1	300,000 CFU/ml	1	1:1 RPMI + 2 mM glutamine + 25 mM HEPES	96	3	None reported
Eisen et al 2013	(RLU at T_{96} - RLU at T_0) / RLU of culture broth	BCG-lux	30	10,000 CFU/ml (100,000 RLU/ml), 200 μl blood in each of quadruplet tests	1	1:1 RPMI + 1% HEPES	72	4	Supplemented 7H9 broth; plasma
Kampmann et al 2006	Growth ratio = RLU at T_{96} / RLU at T_0	BCG-lux	NR	1,000,000 CFU/ml (10,000,000 RLU/ml)	1	1:1 RPMI	96	3	None reported
Tena et al 2003	Growth ratio = RLU at T_{96} / RLU at T_0	BCG-lux	NR	1,000,000 CFU/ml (10,000,000 RLU/ml)	1	1:1 RPMI	96	3	None reported
Kampmann et al 2000	Growth ratio = (RLU at T_{96} - RLU at T_0) / (RLU at T_0)	BCG-lux	NR	10,000 CFU/ml (100,000 RLU/ml)	1	1:1 RPMI + 1% L-glutamine and heparin	96	3	Plasma
Martineau et al 2007a	Luminescence ratio = RLU at T_{96} / RLU at T_0	BCG-lux	1	300,000 CFU/ml	1	1:1 RPMI + 2 mM glutamine + 25 mM HEPES	96	3	None reported
Baguma et al 2017	$\Delta \log_{10} \text{CFU} = \log_{10}(\text{final}) - \log_{10}(\text{initial})$	MGIT	NR	8,500 - 2,4000 CFU/ml	0.6	1:1 RPMI	96	2	Simultaneous direct mycobacterial inoculation of MGIT tube
O'Shea et al 2018a	Growth ratio = $\log_{10}(\text{CFU of sample} / \text{CFU of control})$	MGIT	NR	150 CFU/600 μl	0.6	1:1 RPMI containing 10% pooled human serum + 2 mM L-glutamine and 25 mM HEPES	96	2	Simultaneous direct mycobacterial inoculation of MGIT tube (duplicate)
Wallis et al 2009	$\Delta \log_{10} \text{CFU} = \log_{10}(\text{final}) - \log_{10}(\text{initial})$	MGIT	NR	10,000 CFU/ml (100,000 RLU/ml)	0.6	1:1 tissue culture medium	72	2/1*	Simultaneous direct mycobacterial inoculation of MGIT tube
Nicol et al 2007	Growth ratio = RLU at T_{96} / RLU at T_0	BCG-lux	NR	1,000,000 CFU/ml (10,000,000 RLU/ml)	1	1:1 RPMI	96	3	None reported
O'Shea et al 2018b	Growth ratio = $\log_{10}(\text{CFU of sample} / \text{CFU of control})$	MGIT	NR	150 CFU/600 μl	0.6	1:1 RPMI containing 10% pooled human serum + 2 mM L-glutamine and 25 mM HEPES	96	2	Simultaneous direct mycobacterial inoculation of MGIT tube (duplicate)

En revisión

Table 4. Study quality

Publication	Objective ¹	Population ²	Participation ³	Recruitment ⁴	Sample size ⁵	Exposure assessment ⁶	Timeframe ⁷	Exposure levels ⁸	Exposure validity ⁹	Exposure assessed ¹⁰	Outcome validity ¹¹	Blinding ¹²	Loss to follow-up ¹³	Adjustment confounders ¹⁴	Rating ⁵
Cheon et al 2002	Yes	No	NA	NR	No	Yes	Yes	Yes	Yes	NA	NA	NR	NA	No	Fair
Hoft et al 2002	Yes	No	NA	NR	No	Yes	Yes	Yes	Yes	NA	NA	NR	NA	No	Fair
Kampmann et al 2004	Yes	No	NR	NR	No	Yes	No	NA	Yes	NA	NA	NR	NA	No	Fair
Fletcher et al 2013	Yes	No	NR	NR	No	Yes	Yes	Yes	No	NA	NA	NR	NA	No	Poor
Martineau et al 2007b	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	No	Yes	No	No	Good
Eisen et al 2013	Yes	No	NR	NR	No	Yes	Yes	No	Yes	NA	NA	NR	NA	No	Fair
Kampmann et al 2006	Yes	Yes	NR	Yes	No	Yes	Yes	NA	Yes	No	NA	NR	NA	No	Fair
Tena et al 2003	Yes	No	NR	NR	No	Yes	Yes	NA	No	NA	NA	NR	NA	No	Fair
Kampmann et al 2000	Yes	No	NR	NR	No	Yes	Yes	NA	Yes	No	NA	NR	NA	No	Fair
Martineau et al 2007a ^c	NA	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	NA	Yes	No	NA	NR	NA	Yes	Fair ^c
Baguma et al 2017	Yes	No	NR	NR	No	Yes	Yes	NA	Yes	No	NA	NR	NA	No	Fair
O'Shea et al 2018a	Yes	No	NR	NR	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No	NA	NR	NA	No	Good
Wallis et al 2009	Yes	No	NR	No	No	Yes	Yes	NA	Yes	No	NA	NR	NA	No	Poor
Nicol et al 2007	Yes	No	NR	NR	No	Yes	Yes	NA	No	No	NA	NR	NA	No	Poor
O'Shea et al 2018b	Yes	Yes	NR	Yes	No	Yes	Yes	NA	Yes	No	NA	NR	NA	No	Fair

^aNumbers refer to the following questions that are part of the National Heart, Lung, and Blood Institute's (NHLBI) Quality Assessment Tool for Observational Cohort and Cross-Sectional Studies:

1. Was the research question or objective in this paper clearly stated?
2. Was the study population clearly specified and defined?
3. Was the participation rate of eligible persons at least 50%?
4. Were all the subjects selected or recruited from the same or similar populations (including the same time period)? Were inclusion and exclusion criteria for being in the study prespecified and applied uniformly to all participants?
5. Was a sample size justification, power description, or variance and effect estimates provided?
6. For the analyses in this paper, were the exposure(s) of interest measured prior to the outcome(s) being measured?
7. Was the timeframe sufficient so that one could reasonably expect to see an association between exposure and outcome if it existed?
8. For exposures that can vary in amount or level, did the study examine different levels of the exposure as related to the outcome (e.g., categories of exposure, or exposure measured as continuous variable)?
9. Were the exposure measures (independent variables) clearly defined, valid, reliable, and implemented consistently across all study participants?
10. Was the exposure(s) assessed more than once over time?
11. Were the outcome measures (dependent variables) clearly defined, valid, reliable, and implemented consistently across all study participants?
12. Were the outcome assessors blinded to the exposure status of participants?
13. Was loss to follow-up after baseline 20% or less?
14. Were key potential confounding variables measured and adjusted statistically for their impact on the relationship between exposure(s) and outcome(s)?

Possible answers: Yes; No; CD, cannot determine; NA, not applicable; NR, not reported

^bPossible ratings: good, fair, poor

^cRating of this applies to quality of data extracted for this systematic review, not to quality of main study