

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Departamento de Medicina

Programa de doctorado: Medicina Interna



**DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA MEDIANTE
IGRAs EN PACIENTES CON PSORIASIS**

Autor: Marta Vilavella Rius

Director: José Manuel Carrascosa Carrillo

Trabajo de Investigación.

Convocatoria: Septiembre de 2012

El Dr. José Manuel Carrascosa Carrillo Profesor Asociado Médico del Departamento de Medicina de la *Universitat Autònoma de Barcelona* con ejercicio en la Unidad Docente del hospital *Germans Trias i Pujol* de Badalona (Barcelona) y Facultativo Especialista de Dermatología del mismo Hospital,

HACE CONSTAR,

Que el trabajo titulado “DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA MEDIANTE IGRAs EN PACIENTES CON PSORIASIS” ha sido realizado bajo mi dirección por la licenciada Marta Vilavella Rius y que se halla en condiciones de ser presentado como trabajo de investigación de 12 créditos, dentro del programa de doctorado en Medicina Interna (curso 20011-2012) en la convocatoria de Septiembre.

Badalona a 20 de Agosto de Dos mil doce

ÍNDICE

• Resumen.....	4
• Abreviaturas.....	5
• Introducción.....	6-13
• Objetivos.....	14
• Material y métodos.....	15-18
• Resultados.....	19-24
• Discusión.....	25-30
• Conclusión.....	31
• Bibliografía.....	32-38

RESUMEN

Objetivo: Determinar la incidencia de positividad de los tests *in vitro* para detectar la infección tuberculosa latente y contrastar la correlación entre ellos y la PT (prueba de la tuberculina).

Material y métodos: pacientes con psoriasis moderada y grave en los que estaba indicada la evaluación de infección tuberculosa. Se realizaron la PT y los IGRAs (T-SPOT.TB y QNF-G-IT). Se registró el perfil terapéutico de los pacientes.

Resultados: Se incluyeron 103 pacientes (69 hombres y 34 mujeres) El 42% recibían tratamiento biológico, el 35 % sistémico clásico y el 23% estaban pendientes de recibir tratamiento. Un total de 25 pacientes (24%) presentaron positividad para alguno de los tests practicados: 9 pacientes (8%) presentó positividad para PT, 17 (17 %) para T-SPOT.TB y 18 (18%) para QFN-G-IT. Seis pacientes (5%) presentaron positividad para PT y algún IGRA, por el contrario, 16 pacientes de un total de 94 con PT negativa (17%) mostraron positividad para algún IGRA. La concordancia entre la PT y las técnicas *in vitro* fue baja mientras que el grado de correlación entre ambos IGRAs fue mayor ($\kappa= 0.7$). No se encontraron diferencias significativas en función del perfil terapéutico.

Conclusiones: La buena concordancia observada entre los tests IGRA permite sugerir una elevada especificidad en la detección de las infecciones tuberculosas latentes. Por otro lado, la presencia de un porcentaje notable de pacientes con IGRAs positivo y PT negativa podría indicar también mayor sensibilidad, lo que resulta de especial utilidad en el seguimiento de los pacientes sometidos a inmunosupresión crónica.

ABREVIATURAS

- **BCG:** *Mycobacterium bovis* bacilo Calmette-Guérin
- **CD:** Célula dendrítica
- **CFP-10:** *Culture Filtrate Protein 10*
- **CPA:** Célula presentadora de antígenos
- **ELISA:** *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
- **ELISPOT:** *Enzyme-Linked Immunospot Assay*
- **ESAT-6:** *Early Secretory Antigen Target-6*
- **IFN- γ :** Interferón gamma
- **ITL:** Infección tuberculosa latente
- **MHC:** Complejo mayor de histocompatibilidad
- **MNT:** Micobacterias no tuberculosas
- **PBMCs:** Células mononucleares de sangre periférica
- **PPD:** Derivado proteico purificado
- **PT:** Prueba de la tuberculina
- **PBMCs:** células mononucleares de sangre periférica
- **QFN-G-IT:** Quantiferon-TB Gold *In tube*
- **RD:** Región de diferencia
- **TB:** Tuberculosis
- **TNF- α :** Factor de necrosis tumoral alfa
- **VIH:** Virus de la inmunodeficiencia Humana

INTRODUCCIÓN

La psoriasis es una enfermedad cutánea inflamatoria de curso crónico que afecta al 1-2% de la población mundial, principalmente a individuos caucásicos.¹ Cerca del 25% de los pacientes presentan una forma moderada o severa de la enfermedad ² que es causa frecuente de incapacidad laboral en edades medias de la vida, comportando un importante impacto personal y socioeconómico. No existe cura conocida y los tratamientos existentes van dirigidos a inhibir el proceso inflamatorio y sus consecuencias. Aunque el tratamiento tópico (queratolíticos, corticoides, derivados de la vitamina D) y la fototerapia han demostrado su utilidad en el manejo de pacientes con estadios limitados, en los pacientes con formas severas y/o incapacitantes debe plantearse un tratamiento sistémico. Las terapias basadas en fármacos sistémicos convencionales como el metotrexate, la ciclosporina y el acitretino han demostrado su capacidad para enlentecer o detener la progresión de la enfermedad, aunque en muchos pacientes, la falta de respuesta y la aparición de efectos adversos hacen que estos fármacos sean insuficientes.

En los últimos años, la llegada de los fármacos biológicos, especialmente los antagonistas del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), ha mejorado significativamente la capacidad para inducir remisión de la enfermedad en muchos pacientes y atenuar de forma marcada la gravedad de la dermatosis en muchos otros ³.

Sin embargo, la utilización de terapias biológicas requiere de una evaluación previa y de una vigilancia del paciente ya que se han descrito infecciones bacterianas graves en pacientes tratados con agentes anti-TNF- α . Concretamente, requiere una consideración especial el riesgo de desarrollar tuberculosis (TB), ya que existe una asociación clara entre el tratamiento con anti-TNF- α y la reactivación de la infección tuberculosa ^{4,5}. La principal vía de infección de *Mycobacterium tuberculosis* es la llegada a los alvéolos pulmonares, donde es fagocitado por los macrófagos alveolares. Dado que

M. tuberculosis es un patógeno intracelular, el bacilo consigue evitar su destrucción impidiendo la unión del fagosoma y el lisosoma, y multiplicarse en el interior del macrófago hasta posteriormente destruirlo. El macrófago infectado libera citocinas que atraen a neutrófilos, linfocitos y más macrófagos para que generen un foco inflamatorio. La respuesta Th1 es la responsable del desarrollo de la inmunidad protectora ya que segregan TNF- α , que permite la llegada de más macrófagos, y de IFN- γ que activa a los que están infectados. El TNF- α es una de las citocinas clave en el desarrollo y mantenimiento del granuloma tuberculoso y en la contención de la infección. Por lo todo ello, antes de iniciar la terapia con anti-TNF- α es obligatorio descartar la presencia de infección tuberculosa, y por supuesto una eventual TB activa.⁶

Durante los últimos 100 años se ha utilizado como herramienta para el diagnóstico de la infección tuberculosa la prueba de la tuberculina (PT). La tuberculina se obtiene del filtrado del cultivo de *M. tuberculosis* esterilizado y concentrado. Está constituida por derivado proteico purificado (PPD) que consiste en una mezcla de más de 200 proteínas de *M. tuberculosis*. En España se recomienda emplear la tuberculina PPD RT23 con Tween 80, preparada por el *Statens Serum Institute* de Copenhague, a dosis de 2 UT por 0,1 ml, que es la bioequivalente a la dosis recomendada (5 UT) de la tuberculina patrón internacional, la PPD-S⁷.

La PT se realiza según la técnica de Mantoux, mediante la inyección intradérmica en la cara anterior del antebrazo de una cantidad constante de líquido diluyente (0,1 ml) con la dosis correspondiente de tuberculina. La sensibilización del individuo se manifiesta por una reacción de hipersensibilidad retardada, que produce una induración en el sitio de la inyección, que tiene que comprobarse a las 48-72 horas. Esta respuesta está mediada por células Th1 que migran al punto de inyección de antígeno y producen la liberación de diversas citocinas al reconocer los antígenos presentados por las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II. Posteriormente, activan a los macrófagos provocando una reacción caracterizada por la aparición de eritema e induración.

Si la PT es positiva, considerando una induración ≥ 5 mm a las 72h, se considerará que el individuo está infectado. Si la induración es < 5 mm, se

debe realizar una nueva PT dos semanas después (*booster*), considerando que el paciente está infectado si la induración de la segunda tuberculina es $\geq 5\text{mm}$ ⁷.

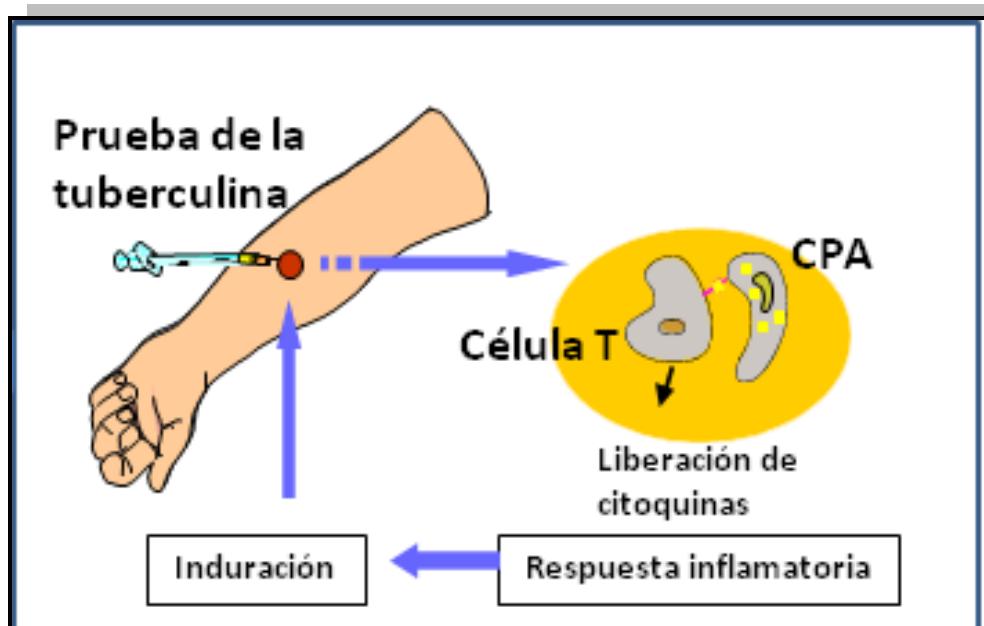


Figura 1: Esquema de la reacción de hipersensibilidad retardada al PPD

Las normativas actuales exigen recoger en la historia clínica de los pacientes los posibles antecedentes de TB y los contactos recientes con pacientes con TB para reducir el riesgo de desarrollar una TB durante el tratamiento con agentes biológicos, realizar una radiografía de tórax para descartar una TB activa o signos radiográficos sugestivos de una antigua TB, así como realizar una PT.^{8, 9}

El principal inconveniente de la PT radica en que la mayoría de proteínas presentes en el PPD no son específicas de *M. tuberculosis* sino que las comparte con otras especies de micobacterias. Esto provoca una disminución en la especificidad de la prueba, ya que individuos sensibilizados por exposición previa a micobacterias no tuberculosas (MNT) o que han recibido la vacuna antituberculosa (*Mycobacterium bovis* bacilo Calmette-Guérin [BCG]) también responden inmunológicamente al PPD. Además, aquellos pacientes infectados por MNT y vacunados con BCG que no han

respondido en la primera PT, pueden dar lugar a una respuesta falsa positiva en la segunda tuberculina en virtud del efecto booster.¹⁰

Por otro lado, aunque la sensibilidad intrínseca de la PT para el diagnóstico de la infección tuberculosa no se conoce, ya que no hay una técnica de referencia o *gold standard*, sí que existen suficientes evidencias de una sensibilidad muy reducida en pacientes con alteraciones en la inmunidad celular en presencia de terapias inmunosupresoras¹¹; precisamente estos son los pacientes en los que es más necesario detectar la infección tuberculosa latente (ITL), puesto que presentan un mayor riesgo de desarrollar TB si están infectados.

Esta menor sensibilidad de la PT es de especial interés en los pacientes con psoriasis candidatos a iniciar terapias biológicas, ya que por lo general, son pacientes que previamente han recibido fármacos inmunosupresores clásicos y que por tanto, pueden tener alterada su respuesta inmunitaria.

En los últimos años, se han desarrollado alternativas a la PT a través de diferentes métodos de cuantificación *in vitro* de la respuesta inmune celular frente a diferentes antígenos micobacterianos. El fundamento de todas ellas es la estimulación de las células T sensibilizadas frente a estos antígenos que facilitarán la liberación de IFN- γ , cuya presencia será indicativa de la infección latente. Esta tecnología se basa en técnicas de ELISA y ELISPOT, que respectivamente han dado lugar a dos técnicas disponibles comercialmente: Quantiferon-TB Gold *In tube* (QFN-G-IT; Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia) y T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Abingdon, Reino Unido). Ambas técnicas, aprobadas por la *Food and Drug Administration* (FDA), consisten en una estimulación *in vitro* de los linfocitos con antígenos específicos de *M. tuberculosis*, seguida de una detección del IFN- γ liberado mediante técnica inmunológica.

El éxito de esta tecnología depende entre otros factores de los antígenos que se emplean durante la estimulación. La utilización de antígenos codificados en la región de diferencia (RD)1, como por ejemplo ESAT-6 y CFP-10, que son antígenos secretados por el complejo *M. tuberculosis* y que

están ausentes en la vacuna BCG y en otras MNT, parece tener una gran capacidad en la detección de individuos infectados por *M. tuberculosis*.

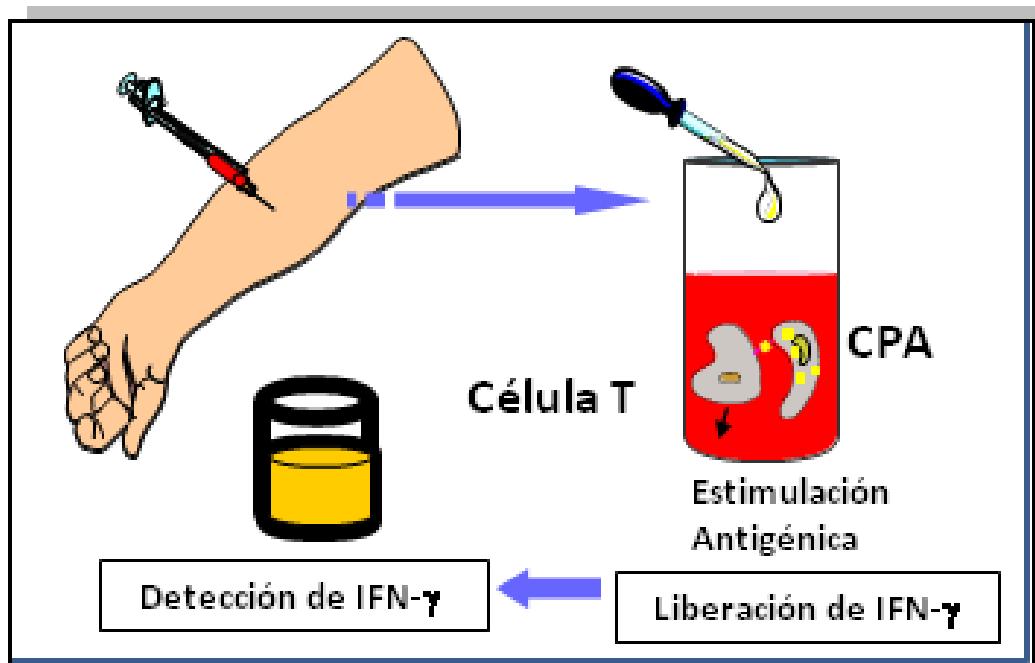


Figura 2. Esquema del fundamento del inmunodiagnóstico basado en la cuantificación *in vitro* de la respuesta inmune celular.

Mientras que QFN-G-IT estimula los linfocitos presentes en muestras de sangre total y determina la producción de IFN- γ mediante técnica de ELISA; T-SPOT-TB requiere una separación previa de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) para su estimulación y determina la presencia de IFN- γ mediante ELISPOT.

Una de las principales diferencias entre ambas técnicas *in vitro* es que en el QFN-G-IT los antígenos específicos de *M. tuberculosis* se utilizan de forma conjunta para la estimulación de la sangre total, mientras que en el T-SPOT.TB se emplean por separado para estimular las PBMCs. Además, en el QFN-G-IT se incluye un tercer antígeno: TB7.7 (Rv2654). Este antígeno está codificado en la RD11 y también está ausente en la vacuna de la BCG y en otras MNT.

T-SPOT.TB

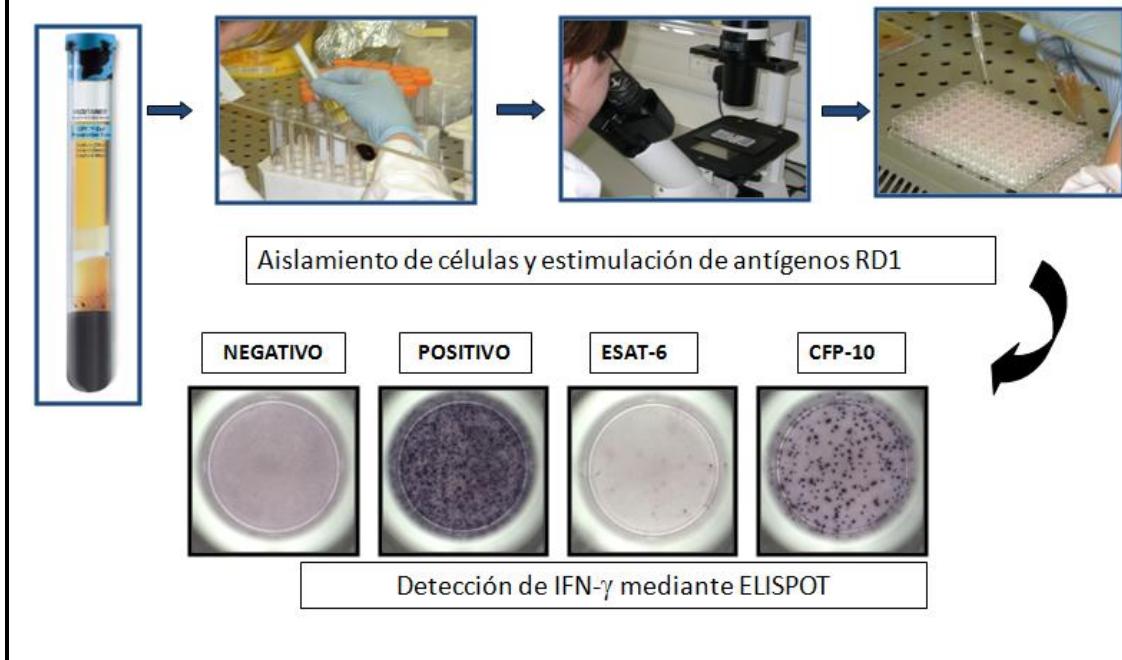


Figura 3. Esquema de la técnica T-SPOT.TB

QFN-G-IT

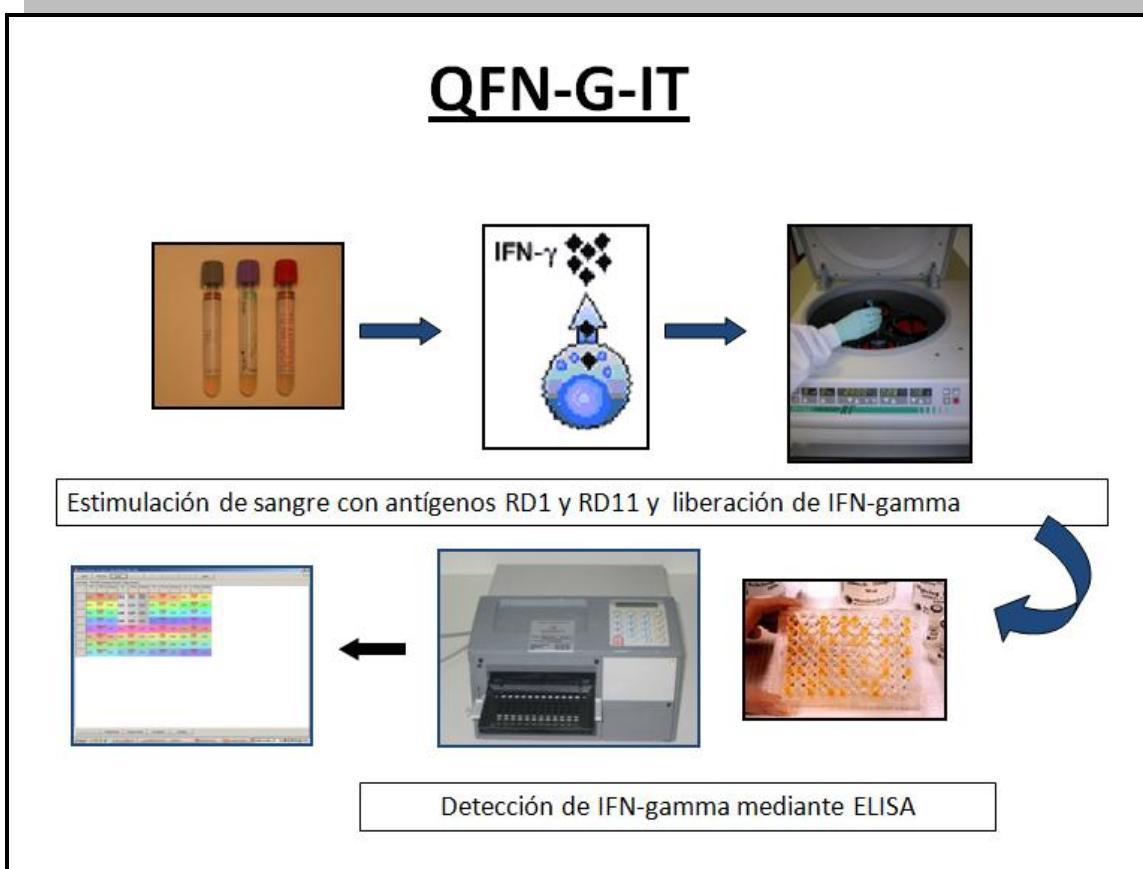


Figura 4. Esquema de la técnica QFN-G-IT

Variable	T-SPOT.TB	QFN-G-IT	PT
Tipo de técnica	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>
Muestra biológica	PBMCs	Sangre total	Inoculación intradérmica
Antígenos	ESAT-6 y CFP-10, por separado	ESAT-6, CDP-10 y TB7.7, en conjunto	PPD
Sistema de lectura	ELISPOT	ELISA	Induración
Unidades de lectura	Nº células efectoras secretoras de IFN-gama	Unidades Internacionales de IFN-gamma liberado	Milímetros
Tipo de resultado	Positivo, negativo o indeterminado	Positivo, negativo o indeterminado	Positivo o negativo
Tiempo	18-24h	18-24h	48-72h
Equipamiento de laboratorio	Sí	Sí	No
Reacción cruzada con MNT	No	No	Sí
Control interno de anergia	Sí	Sí	No
Efecto booster	No	No	Sí
Segunda visita del paciente	No	No	Sí

Figura 5: Tabla comparativa que muestra las características de las técnicas T-SPOT.TB, QFN-G-IT y PT.

Las técnicas de inmunodiagnóstico *in vitro* disminuyen las posibilidades de error asociadas a la técnica de aplicación y lectura la PT. La aplicación previa de la PT o pruebas repetidas de QFT-G o T SPOT TB no alteran la respuesta.

Se ha descrito que estas técnicas son más específicas que la PT en pacientes vacunados con la BCG y que correlacionan mejor con la exposición a *M. tuberculosis*¹³⁻¹⁶. Asimismo, existe una evidencia cada vez mayor de que las técnicas basadas en la detección de IFN- γ son también robustas cuando se emplean para el diagnóstico de infección tuberculosa en pacientes con déficit en la respuesta inmune celular^{17,18}, como podrían ser niños^{19,20}, pacientes coinfecados con el VIH²¹⁻²⁵ y pacientes en tratamiento con fármacos inmunosupresores.²⁶⁻²⁸

En este sentido, los IGRAs pueden detectar ausencia de respuesta inmune ya que presentan controles internos que permiten identificar la falta de respuesta en pacientes anérgicos. Por lo tanto, un resultado negativo en el mitógeno (control positivo) y negativo frente a los antígenos específicos se ha de considerar un resultado indeterminado, y este resultado implica una falta de respuesta de las células T del paciente.

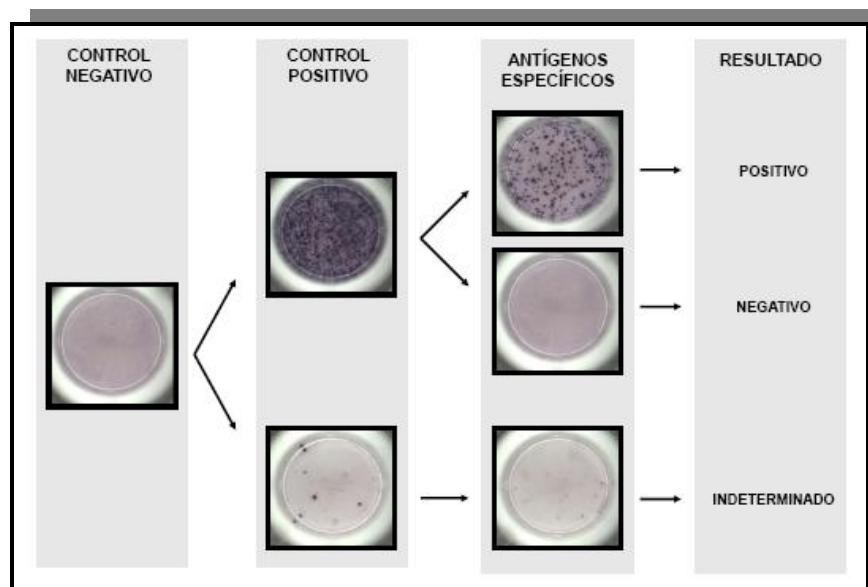


Figura 6. Esquema de los posibles resultados del T-SPOT. TB

OBJETIVOS

Teniendo en cuenta la importancia del despistaje de la infección tuberculosa en los pacientes con psoriasis, el objetivo de nuestro trabajo es:

- Determinar la incidencia de positividad de los tests *in vitro* para la infección latente tuberculosa en un grupo de pacientes con psoriasis.
- Contrastar la correlación entre los resultados de las técnicas *in vitro* y la PT.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Diseño

- Estudio prospectivo y transversal

2. Sujetos en estudio

- Se incluyeron pacientes con psoriasis moderada y grave que seguían controles en las consultas de Dermatología del Hospital Germans Trías i Pujol de Noviembre del 2010 a Noviembre del 2011 y que requerían evaluación de la presencia de tuberculosis latente, bien de forma previa al inicio de un tratamiento sistémico inmunosupresor o por su uso mantenido
- Se registró la edad, el sexo y el país de procedencia de cada individuo.
- Se registró el perfil terapéutico de cada paciente, estableciéndose tres categorías:
 - Tratamiento sistémico clásico (Ciclosporina, Metotrexate o Acitretino)
 - Tratamiento con fármacos biológicos (Infliximab, Etanercept, Adalimumab o Ustekinumab)
 - Sin tratamiento o en screening (pendientes de iniciar algún tratamiento).
- Criterios de exclusión:
 - Los pacientes con PT positiva conocida previa no se incluyeron en el estudio. Únicamente estudiamos aquellos sujetos con PT negativa previa o no realizada.
 - Se realizó una radiografía de tórax a todos los pacientes, eran excluidos si presentaban enfermedad tuberculosa.
- Todos los pacientes eran mayores de edad y habían firmado consentimiento para participar en el estudio.
- El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.

3. Pruebas de diagnóstico de la infección tuberculosa:

A todos los pacientes se les realizó de manera simultánea la PT y los dos IGRAs (T-SPOT.TB y QNF-G-IT).

3.1 Prueba de Tuberculina (PT)

- La tuberculina fue administrada por el método de Mantoux usando 2 U de PPD-RT23 e interpretada únicamente por miembros del equipo investigador.
- La lectura se realizó entre las 48 y las 72 horas después de la administración.

3.2 IGRAs (T-SPOT.TB y QFN-G-IT)

Obtención de las muestras

- Se recogieron muestras de sangre de todos los pacientes seleccionados mediante el método estándar de venopunción.
- Se recogieron 15 ml de sangre en tubos específicos CPT (Becton Dickinson) y de QFN-G-IT (Cellestis).
- Las muestras se remitieron inmediatamente al laboratorio de microbiología.

Antígenos proteicos purificados utilizados

- Se emplearon como antígenos estimuladores de las células T las proteínas completas segregadas por el complejo *M.tuberculosis*: ESAT-6, CFP-10 y TB7.7.
- Los antígenos fueron proporcionados por Oxford Immunotec y Cellestis.

Preparación de las células mononucleares

- Las células mononucleares se obtuvieron a partir de sangre venosa y también de las muestras del foco de infección de los pacientes que se incluían en el estudio.
- Las células mononucleares se separaron mediante centrifugación en tubos CPT con citrato como anticoagulante.
- Se realizó un recuento para asegurar una concentración celular mínima de 2.5×10^6 células/ml.

Estimulación antigénica

- Alícuotas de sangre total y también de las células mononucleares purificadas fueron estimuladas con diferentes concentraciones de cada fracción de antígeno micobacteriano durante 18 horas.
- También se incluyeron controles positivos (fitohemaglutinina) y controles negativos.

Detección de la producción de IFN- γ

- Tras la estimulación se determinaron la producción de IFN- γ en los sobrenadantes mediante técnicas estandarizadas de EIA (QuantiFERON GOLD *In tube*. Cellestis) y mediante ELISPOT (T.SPOT-TB. Oxford Immunotec Ltd) empleando anticuerpos específicos.
 - **QFN-G-IT:** Lectura la cantidad de IFN- γ mediante lector automático.
 - **T-SPOT-TB:** Recuento de “spots” o “manchas” mediante inspección visual.

4. Variables

-Variable resultado:

Prueba de la tuberculina (PT)

- Positiva
- Negativa

IGRAs

○ T-SPOT.TB:

- Positivo
- Negativo
- Indeterminado
- No valorable/ No válido: Contaminación de la muestra

○ QFN-G-IT:

- Positivo
- Negativo
- Indeterminado

5. Recogida y análisis de datos

- Los resultados se analizaron mediante SPSS.
- Se realizaron pruebas paramétricas y no paramétricas mediante el análisis estadístico t-Student y el U de Mann-Whitney, respectivamente. En todas las comparaciones se tomó un nivel de significación del 5% (unilateral). Se calculó el grado de concordancia entre las técnicas *in vitro* y la tuberculina de manera global y en los diferentes grupos de pacientes según su perfil terapéutico mediante la kappa de Cohen (κ).

RESULTADOS

1. Pacientes:

- Se estudiaron un **total de 103 pacientes** con psoriasis moderada y grave reclutados en el Hospital Germans Trías i Pujol.
- Más de la mitad de los pacientes eran hombres (**69 hombres y 34 mujeres**).
- La mayoría de los participantes eran **españoles** (98,1%), únicamente dos pacientes provenían de un área con elevada prevalencia de tuberculosis.: Marruecos y Uruguay.
- La **edad media** de los pacientes estudiados fue de **45,98 años**.
- La mayoría de ellos estaban recibiendo **terapia sistémica** para la psoriasis:
 - El 35% tratamiento con fármacos clásicos (Acitretino, Metotrexate o Ciclosporina).
 - El 41,7% tratamiento con fármacos biológicos (Adalimumab, Etanercept, Infliximab o Ustekinumab).
 - El 23,3% no recibía tratamiento (en screening).

Variable	Grupo de estudio
Sujetos:	103
Sexo:	
Hombre	69 (67%)
Mujer	34 (33%)
Edad ± SD (años):	45.98 (\pm 13.55)
País de nacimiento:	
Imigrantes de países con alta prevalencia de infección TBC	2 (1,9%)
Residentes en un país sin epidemia de TBC	101 (98,1%)
Tratamiento para la psoriasis:	
Clásicos	36 (35%)
Biológicos	43 (41,7%)
En screening (pendientes de iniciar)	24 (23,3%)

Figura 7: Características epidemiológicas del grupo de pacientes estudiados

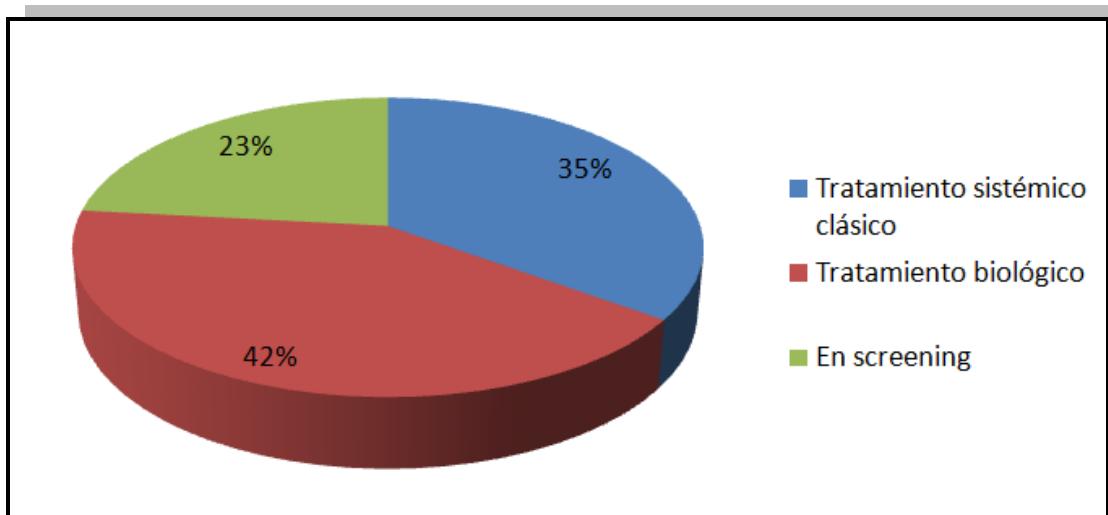


Figura 8. Perfil terapéutico de los pacientes incluidos en el estudio.

2. Resultados de las técnicas

- De los 103 pacientes estudiados, un total de 25 pacientes (24%) presentaron positividad para alguno de los tests practicados para descartar infección latente tuberculosa.
- La PT fue positiva en 9 pacientes (8%).
- Con respecto a las técnicas *in vitro*, se obtuvieron 17 positivos con T-SPOT. TB (17%) y 18 con QNF-G-IT (18%).

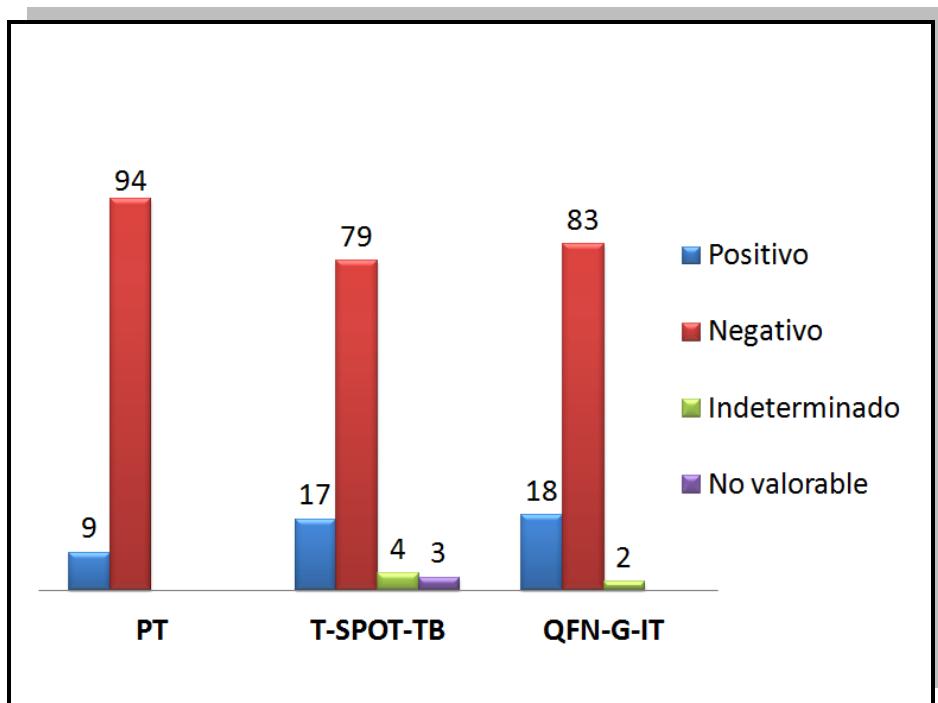


Figura 9. Gráfico de barras con el resultados de las técnicas realizadas

- Al desglosar los datos, observamos que 23 pacientes (22%) mostraron positividad para alguno de los IGRAs (T-SPOT.TB y/o QFN-G-IT)
- De los 94 pacientes con PT negativa, 16 casos (17%) mostraron positividad para alguno de los IGRAs:
 - En 6 casos tanto el QFN-G-IT como el T-SPOT.TB fueron positivos
 - 4 pacientes mostraron T-SPOT.TB negativo y QFN-G-IT positivo
 - 1 paciente T-SPOT.TB no valorable y QFN-G-IT positivo
 - 1 paciente T-SPOT.TB positivo y QFN-G-IT indeterminado
 - En 4 pacientes se observó T-SPOT.TB positivo y QFN-G-IT negativo.
- Por otro lado, en 2 de los 9 pacientes con PT positiva (22% de los positivos para PT) ambos IGRAs fueron negativos.
- Tuvimos algún resultado indeterminado de los tests in vitro en 5 pacientes (5% de los pacientes con PT negativa). Un paciente con PT negativa mostró los dos IGRAs indeterminados.

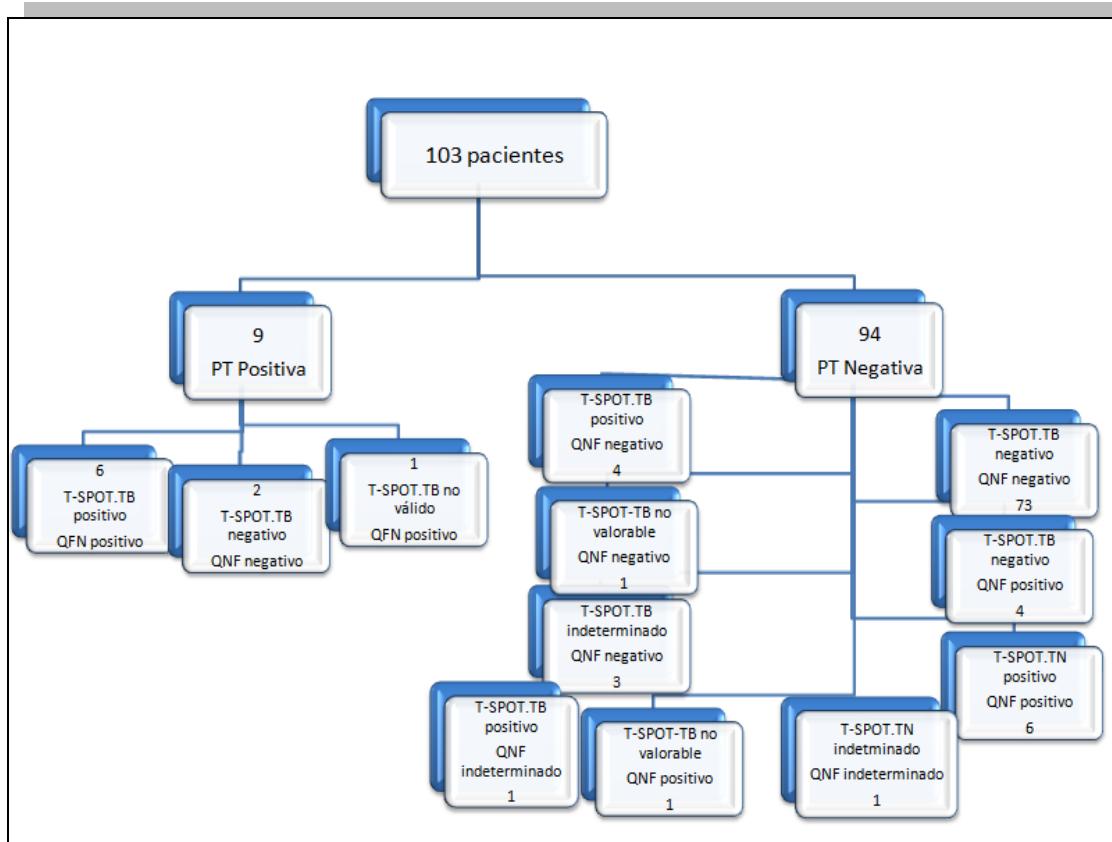


Figura 10: Esquema de los resultados obtenidos con las distintas técnicas: PT, T-SPOT.TB y QFN-G-IT.

3. Concordancia entre las técnicas:

- En la segunda parte del estudio se evaluó la concordancia entre las distintas técnicas.

Resultado	Resultado T-SPOT.TB		Total
	Negativo	Positivo	
Negativo	77	10	87
PT	2	6	8
Total	79	16	95

	Valor	Error típ. asint. ^a	T aproximada ^b	Sig. aproximada
Medida de acuerdo	.437	.131	4.593	.000
N de casos válidos	95			

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

Resultado	Resultado QFN-G-IT		Total
	Negativo	Positivo	
Negativo	77	10	87
PT	2	6	8
Total	79	16	95

	Valor	Error típ. asint. ^a	T aproximada ^b	Sig. aproximada
Medida de acuerdo	.437	.131	4.593	.000
N de casos válidos	95			

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

Resultado T-SPOT.TB	Resultado QFN-G-IT		Total
	Negativo	Positivo	
Negativo	75	4	79
Positivo	4	12	16
Total	79	16	95

	Valor	Error típ. asint. ^a	T aproximada ^b	Sig. aproximada
Medida de acuerdo Kappa N de casos válidos	.699 95	.099	6.817	.000

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

- En nuestro trabajo, obtuvimos un alto grado de concordancia entre los dos IGRAs (TSPOT.TB y QFN-G-IT) con una medida de acuerdo kappa de Cohen (κ) de 0,699, mientras que la correlación entre la PT y cada uno de los IGRAs fue menor con una kappa de Cohen (κ) =0,437 .

- La concordancia entre la PT y las pruebas in vitro fue estudiada entre los distintos grupos en evaluación de manera individual (pacientes en tratamiento sistémico clásico, en tratamiento biológico y en screening-sin tratamiento-) sin observarse diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$ en todos los grupos).

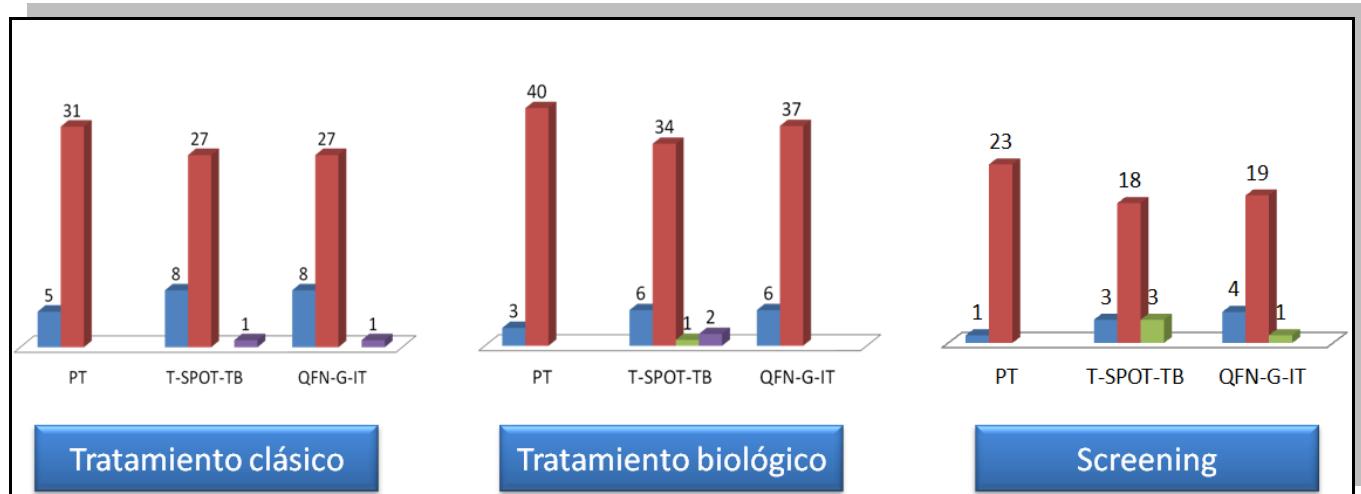


Figura11: Resultados de las distintas técnicas en cada grupo de pacientes según su perfil terapéutico.

Tratamiento clásico y
Tratamiento biológico

	Resultado PPD	Resultado T-SPOT.TB	Resultado QFN
U de Mann-Whitney	720.500	751.000	685.500
W de Wilcoxon	1666.500	1697.000	1631.500
Z	-1.008	-.310	-1.281
Sig. asintót. (bilateral)	.314	.757	.200

a. Variable de agrupación: Tratamiento Actual

Tratamiento clásico y
Screening

	Resultado PPD	Resultado T-SPOT.TB	Resultado QFN
U de Mann-Whitney	390.000	423.000	418.000
W de Wilcoxon	690.000	1089.000	716.000
Z	-1.219	-.180	-.328
Sig. asintót. (bilateral)	.223	.857	.743

a. Variable de agrupación: Tratamiento Actual

Tratamiento biológico y
Screening

	Resultado PPD	Resultado T-SPOT.TB	Resultado QFN
U de Mann-Whitney	501.500	493.500	477.500
W de Wilcoxon	801.500	1439.500	1423.500
Z	-.482	-.404	-.784
Sig. asintót. (bilateral)	.644	.686	.433

a. Variable de agrupación: Tratamiento Actual

Figura: Tablas con los resultados de las pruebas no paramétricas.

DISCUSIÓN

En nuestra serie observamos positividad para alguno de los IGRAs en el 22 % de los pacientes con psoriasis moderada y grave en tratamiento sistémico inmunosupresor o pendiente de iniciarla, con buena concordancia entre las distintas técnicas empleadas pero baja con respecto a la PT.

En su conjunto, las técnicas *in vitro* resultaron positivas en un porcentaje superior al de la técnica de la PT, considerada hasta ahora como la prueba de referencia para diagnosticar infección tuberculosa latente. De este modo, la PT resultó positiva en el 8% de los casos, mientras que la tasa de infección tuberculosa detectada por cada uno de los IGRAs fue de el doble (T-SPOT.TB 17% y QFN-G-IT 18%). Aunque no podemos probar la especificidad de los tests *in vitro*, en el sentido de que todos los positivos sean en realidad indicativos de tuberculosis latente , la experiencia acumulada con anterioridad y la elevada correlación observada entre ambos en nuestra serie permite sugerir al menos que la sensibilidad es mayor a la de la PT.

En un porcentaje no desdeñable de pacientes (17%) con PT negativa se obtuvo algún IGRA positivo, por lo que estos pacientes fueron considerados como falsos negativos de la PT y recibieron profilaxis antituberculosa. Aunque por supuesto no puede descartarse del todo que éstos fueran falsos positivos de los tests *in vitro* si no se hubieran realizado las técnicas *in vitro*, estos sujetos habrían escapado del cribaje tuberculoso, es decir, no se habría detectado la infección latente y por consiguiente no habrían sido tratados.

Por otro lado, un 22% de los pacientes de nuestro estudio con PT positiva mostró negatividad para ambos IGRAs. De nuevo, no puede descartarse una falta de sensibilidad de los tests *in vitro* en la detección de la infección tuberculosa. Sin embargo, el empleo de 2 técnicas contrastadas y su coincidencia permite de nuevo sugerir que se correspondían con falsos positivos para la PT, ya fuera por vacunación previa o por contacto con otras

MNT. De todos modos, en el momento actual, al no disponer de la suficiente evidencia de las técnicas como para dejar de tratar a los pacientes, estos sujetos fueron considerados como infectados por TB y recibieron la pauta profiláctica.

De hecho, uno de los aspectos críticos para la incorporación de las técnicas *in vitro* en la práctica clínica, radica en establecer si es seguro o no administrar profilaxis tuberculosa a pacientes que van a recibir o están recibiendo fármacos inmunosupresores y que tienen una PT positiva y unas técnicas *in vitro* negativas. Se conoce muy poco acerca de la monitorización de la infección tuberculosa durante el tratamiento anti-TNF- α , y del valor pronóstico de estas técnicas en la progresión a enfermedad. En este sentido, existen algunos estudios como Laffitte E et al³⁶ que estudiaron 50 pacientes con psoriasis previamente a iniciar tratamiento con anti-TNF- α ; en todos ellos se realizó PT y T-SPOT.TB y observaron que ninguno de los pacientes con T-SPOT.TB negativo (independientemente del resultado de la PT) que no recibieron profilaxis desarrolló TB en los 4 años siguientes. Garcovich S et al³⁵ estudió también 50 pacientes con PT y QFN-G-IT al inicio de la terapia con anti-TNF- α , ningún paciente con QFN-G-IT negativo y radiografía de tórax normal recibió profilaxis, y ninguno de ellos desarrolló TB en los 18 meses siguientes. Finalmente, Chiu HY et al³⁸ realizaron QFN-G-IT en 110 pacientes con psoriasis que recibieron tratamiento biológico, siendo el test positivo en 12 casos. Por diferentes motivos, únicamente recibieron profilaxis 4 de los pacientes con QFN-G-IT positivo, y del total de pacientes, únicamente desarrolló TB un paciente con QFN-G-IT positivo que había rechazado la profilaxis.

La cuestión de dejar de administrar profilaxis si los IGRAs son negativos no está resuelta, a pesar de estos resultados preliminares que apuntan que a corto-medio plazo se podría cambiar este planteamiento. En el momento actual, lo más prudente sería utilizar la PT y las técnicas del IFN- γ de forma conjunta considerando infección cuando cualquiera de las dos técnicas sea positiva.

En nuestro estudio, observamos que un paciente con PT negativa mostró ambos IGRAs con resultado indeterminado. Este hecho podría significar que

se trataba de un paciente anérgico con un falso negativo de la tuberculina. El 5% de los pacientes del estudio con PT negativa mostraron algún IGRA indeterminado. Por lo que respecta a los resultados indeterminados, se ha descrito que están asociados a niños menores de 5 años, inmunosupresión y una PT negativa.^{14,40,41}

No obstante, en nuestro estudio hemos observado algún resultado indeterminado en población inmunocompetente (pacientes que no recibían tratamiento). En nuestra experiencia⁴², observamos que los pacientes con psoriasis presentan, tanto por T-SPOT.TB como mediante QFN-G-IT, un mayor número de resultados positivos y un menor número de resultados indeterminados que los pacientes con enfermedad de Crohn. Estos resultados podrían ser atribuibles a la mayor inmunosupresión de los tratamientos a los que son sometidos los pacientes con enfermedad de Crohn antes de iniciar los tratamientos anti-TNF- α .

De acuerdo con estudios recientes en pacientes con psoriasis^{35,36,39} nuestros resultados muestran una concordancia entre IGRA's y PT mediocre, mientras que por contra observamos una alta correlación entre ambos IGRAs. Esto hablaría a favor de la coherencia de los resultados de las pruebas *in vitro*.

De igual manera, se han reportado varios estudios que encuentran una baja concordancia de las pruebas de tuberculina e IGRA en el contexto de otras enfermedades inflamatorias, como la artritis reumatoide, en poblaciones endémicas y no endémicas para tuberculosis.^{11, 29}

Por lo que respecta a los resultados discordantes entre las técnicas *in vitro* de detección de IFN- γ y la PT, la mayoría de estudios los atribuyen a la vacuna de la BCG. Sin embargo, también se han observado resultados positivos por la PT y negativos por las técnicas *in vitro* en pacientes no vacunados con la BCG. Una posible explicación de estos resultados discordantes sería la sensibilización por MNT. De hecho, Domínguez et al han descrito el papel que desempeñan las MNT en población pediátrica como posible factor de discordancia entre las técnicas *in vitro* y la PT.^{19, 42}

Al agrupar los pacientes según el perfil terapéutico (pacientes en tratamiento clásico, biológico y sin tratamiento-en screening) no encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la concordancia entre las pruebas diagnósticas, aunque una de las limitaciones de nuestro estudio, que impediría obtener conclusiones en este punto, sería el bajo número de pacientes estudiados.

Por otro lado, el análisis del efecto de los fármacos inmunosupresores en los resultados de las técnicas inmunológicas todavía es desconocido. En este sentido, los resultados del estudio de Soborg et al.²⁹ muestran como el tratamiento con corticoides podía afectar al resultado del QFN-G-IT, dando lugar a un mayor porcentaje de resultados indeterminados y una disminución de resultados positivos por la PT. Esta circunstancia, muy interesante desde un punto de vista práctico en la clínica diaria, no pudo ser comprobada o desmentida en nuestro grupo en aquellos pacientes en tratamiento sistémico inmunosupresor o biológico, al no encontrarse diferencias entre éstos y los pacientes en screening, pendientes de iniciar tratamiento. Sin embargo, las limitaciones en este punto ya fueron apuntadas con anterioridad.

En varios estudios se ha evaluado la utilidad de las técnicas basadas en la detección de IFN- γ para el diagnóstico de la infección por *M. tuberculosis* en pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas que van a iniciar tratamientos biológicos²⁸⁻³⁴. Sin embargo, algunos de estos trabajos se han llevado a cabo con versiones previas del QFN-G-IT; y además se ha evaluado su utilidad en el diagnóstico de la infección tuberculosa en poblaciones bastante heterogéneas, mezclando pacientes con enfermedades reumáticas, digestivas y dermatológicas, con diferentes grados de inmunosupresión farmacológica. Los estudios recientemente publicados que exploran la utilidad de las técnicas basadas en la detección de IFN- γ en pacientes con psoriasis³⁵⁻³⁹ muestran resultados congruentes con nuestro trabajo puesto que se ha visto que los IGRAs han ayudado a detectar mayor número de pacientes con infección tuberculosa latente que la PT y que la concordancia observada entre las técnicas *in vitro* ha sido alta.

Las tecnologías *in vitro* disponen de algunas ventajas obvias (son rápidas, son más reproducibles, preservan la confidencialidad, son menos subjetivas en la interpretación, no tienen reacción cruzada con la BCG, no producen efectos “booster” y evitan la pérdida de casos que no acudían a la lectura de la PT), pero también tienen el inconveniente de ser más caras, precisar personal adiestrado y no ser totalmente específicas de *M. tuberculosis*, ya que comparten antígenos con *M. kansasii*, *M. szulgei* y *M. marinum*).⁴⁴ Aunque la implantación de este tipo de técnicas puede implicar un incremento del coste económico, probablemente son más eficaces y rentables en una amplia gama de escenarios y, a medio plazo, pueden suponer un importante ahorro de recursos sanitarios, en cuanto a disminuir los fases positivos y los gastos subsiguientes.⁴⁵

Las indicaciones actuales de las IGRAs no son uniformes. Son pocas las normativas que explícitamente usan los grados de evidencia científica^{46,47} y las revisiones sistemáticas⁴⁸. También son pocos los países (16, entre ellos España)⁴⁵ que han hecho recomendaciones específicas sobre el uso de estas pruebas.

Aunque no hay una normativa común y universal aceptada, la postura más extendida es que probablemente los IGRAs no deban de momento sustituir, pero sí complementar a la PT en algunos casos.⁴⁹

En este sentido, en los pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas como la psoriasis, pendientes de iniciar tratamiento con fármacos anti-TNF, es enormemente relevante estudiar cuál de estas pruebas predice mejor el riesgo de presentar TB.

Conocer con exactitud la utilidad de estas técnicas nos ayudará a diseñar estrategias racionales para su inclusión en el diagnóstico de la infección tuberculosa, y establecer un algoritmo más racional para la indicación del tratamiento profiláctico.

CONCLUSIONES

Los fármacos biológicos han aparecido como una opción terapéutica eficaz para la psoriasis. Sin embargo, existe una asociación entre tratamiento con anti-TNF- α y reactivación de la infección tuberculosa. La PT, utilizada hasta la fecha como herramienta para el diagnóstico de la infección tuberculosa, presenta una baja especificidad en pacientes vacunados con la BCG y una baja sensibilidad en pacientes con alteraciones de la inmunidad celular.

Las pruebas basadas en la determinación *in vitro* de IFN- γ para el diagnóstico de la infección tuberculosa son, tal y como se ha comprobado en diversos grupos poblacionales, más sensibles y específicas que la PT ya que utilizan antígenos específicos de *M.tuberculosis*. Estas técnicas pueden ser especialmente útiles en el seguimiento de pacientes con inmunosupresión crónica ya que al disponer de un control positivo y negativo permiten detectar casos de anergia. Los resultados de nuestra serie permiten sugerir una mayor sensibilidad y especificidad en la detección de la tuberculosis latente con respecto a la PT de forma independiente al estado de inmunosupresión y al fármaco empleado en los pacientes con psoriasis moderada y grave, con alta concordancia entre las técnicas empleadas.

En el diagnóstico de infección tuberculosa latente, por el momento, y priorizando la seguridad del paciente, resulta adecuada la determinación conjunta de ambas técnicas (PT e IGRAs). Es probable que en un futuro muy próximo el mejor conocimiento de estos tests diagnósticos nos permita diseñar una estrategia personalizada en el seguimiento de cada paciente en función de su grupo de riesgo y conocer cuál de las técnicas *in vitro* presenta mejores cualidades para convertirse en el nuevo estandar en el screening rutinario de la infección latente tuberculosa.

BIBLIOGRAFÍA

- 1-Koo J. Population-based epidemiologic study of psoriasis with emphasis on quality of life assessment. *Dermatol Clin* 1996;14: 485-96
- 2-Chaudhari U, Romano P, Mulcahy LD, Dooley LT, Baker DG, Gottlieb AB. Efficacy and safety of infliximab monotherapy for plaque-type psoriasis: a randomized trial. *Lancet* 2001; 357: 1842-7.
- 3-Patel R, Cafardi JM, Patel N, Sami N, Cafardi JA: Tumor necrosis factor biologics beyond psoriasis in dermatology. *Expert Opin Biol Ther* 2011;11:1341-1359.
- 4- Gardam MA, Keystone EC, Menzies R, Manners S, Skamene E, Long R, et al.: Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. *Lancet Infect Dis* 2003;3:148-155.
- 5-Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, et al.: Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha neutralizing agent. *N Engl J Med* 2001;345:1098-1104
- 6-Carmona L, Gomez-Reino JJ, Rodriguez-Valverde V, Montero D, Pascual-Gomez E, Mola EM, et al.: Effectiveness of recommendations to prevent reactivation of latent tuberculosis infection in patients treated with tumor necrosis factor antagonists. *Arthritis Rheum* 2005;52:1766-1772.
- 7-Ruiz-Manzano J, Blanquer R, Calpe JL, Caminero JA, Caylà J, Domínguez J, et al.: SEPAR Guidelines. Diagnostic and treatment of tuberculosis. *Arch Bronconeumol* 2008;44:551-566.
- 8-J. Ledingham and C. Deighton, "Update on the British Society for Rheumatology guidelines for prescribing TNF α blockers in adults with rheumatoid arthritis (update of previous guidelines of April 2001)," *Rheumatology*, vol. 44, no. 2, pp. 157–163, 2005.
- 9- I. Solovic, M. Sester, J. J. Gomez-Reino et al., "The risk of tuberculosis related to tumour necrosis factor antagonist therapies: a TBNET consensus

- statement," *European Respiratory Journal*, vol. 36, no. 5, pp. 1185–1206, 2010.
- 10- Menzies D. Interpretation of repeated tuberculin test. Boosting, conversion and reversion. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 159:15-21
 - 11- Ponce de Leon D, Acevedo-Vasquez E, Sanchez-Torres A, Cucho M, Alfaro J, Perich R, Pastor C, Harrison J, Sanchez-Schwartz C. Attenuated response to purified protein derivative in patients with rheumatoid arthritis: study in a population with a high prevalence of tuberculosis. *Ann Rheum Dis.* 2005; 64: 1360-1361.
 - 12- Arend SM, Thijssen SF, Leyten EM, Bouwman JJ, Franken WP, Koster BF, et al.: Comparison of Two Interferon-Gamma Assays and Tuberculin Skin Test for Tracing TB Contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:618-627.
 - 13- Ewer K, Deeks J, Alvarez L, Bryant G, Waller S, Andersen P, et al.: Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. *Lancet* 2003;361:1168-1173.
 - 14- Ferrara G, Losi M, D'Amico R, Roversi P, Piro R, Meacci M, et al.: Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study. *Lancet* 2006;367:1328-1334.
 - 15- Lalvani A, Nagvenkar P, Udwadia Z, Pathan AA, Wilkinson KA, Shastri JS, et al.: Enumeration of T cells specific for RD1-encoded antigens suggests a high prevalence of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in healthy urban Indians. *J Infect Dis* 2001;183:469-477.
 - 16- Porsa E, Cheng L, Graviss EA: Comparison of an ESAT-6/CFP-10 peptidebased enzyme-linked immunospot assay to a tuberculin skin test for screening of a population at moderate risk of contracting tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14:714-719.
 - 17- Domínguez J, Latorre I: Role of the T-cell interferon-gamma release assays in preventing reactivation of latent tuberculosis infection in immunosuppressed patients in treatment with anti-TNF agents. *J Crohn's & Colitis* 2008;2:250-254.

- 18- Domínguez J, Latorre I, Altet N, Mateo L, De Souza-Galvao M, Ruiz-Manzano J, et al.: IFN-gamma-release assays to diagnose TB infection in the immunocompromised individual. *Expert Rev Respir Med* 2009;3:309-327.
- 19- Altet N, De Souza-Galvao M, Latorre I, Milà C, Jimenez MA, Solsona J, et al.: Diagnosing TB infection in children: analysis of discordances using *in vitro* tests and tuberculin skin test. *Eur Respir J* 2011; 37:1166-1174.
- 20- Lalvani A, Millington KA: T cell-based diagnosis of childhood tuberculosis infection. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20:264-271.
- 21- Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA, Pathan AA, Ewer K, Ayles H, et al.: Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells. *AIDS* 2002; 16: 2285-2293.
- 22- Dheda K, Lalvani A, Miller RF, Scott G, Booth H, Johnson MA, et al.: Performance of a T-cell-based diagnostic test for tuberculosis infection in HIV-infected individuals is independent of CD4 cell count. *AIDS* 2005;19: 2038-2041.
- 23- Latorre I, Martínez-Lacasa X, Font R, Lacoma A, Puig J, Tural C, et al.: IFNgamma response on T-cell based assays in HIV-infected patients for detection of tuberculosis infection. *BMC Infect Dis* 2010;10: 348.
- 24- Richeldi L, Losi M, D'Amico R, Luppi M, Ferrari A, Mussini C, et al.: Performance of tests for latent tuberculosis in different groups of immunocompromised patients. *Chest* 2009; 136:198-204.
- 25- Leidl L, Mayanja-Kizza H, Sotgiu G, Baseke J, Ernst M, Hirsch C, et al.: Relationship of immunodiagnostic assays for tuberculosis and numbers of circulating CD4+ T-cells in HIV infection. *Eur Respir J* 2009;35: 619-626.
- 26- Cobanoglu N, Ozcelik U, Kalyoncu U, Ozen S, Kiraz S, Gurcan N, et al.: Interferon-gamma assays for the diagnosis of tuberculosis infection before using tumour necrosis factor-alpha blockers. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11:1177-1182.
- 27- Richeldi L, Ewer K, Losi M, Hansell DM, Roversi P, Fabbri LM, et al.: Early diagnosis of subclinical multidrug-resistant tuberculosis. *Ann Intern Med* 2004;140:709-713.
- 28- Minguez S, Latorre I, Mateo L, Lacoma A, Diaz J, Olive A, et al.: Interferongamma release assays in the detection of latent tuberculosis

- infection in patients with inflammatory arthritis scheduled for anti-tumour necrosis factor treatment. *Clin Rheumatol* 2012;DOI 10.1007/s10067-012-1938-z.
- 29- Soborg B, Ruhwald M, Hetland ML, Jacobsen S, Andersen AB, Milman N, et al.: Comparison of screening procedures for *Mycobacterium tuberculosis* infection among patients with inflammatory diseases. *J Rheumatol* 2009;36:1876-1884.
- 30- Belard E, Semb S, Ruhwald M, Werlinrud AM, Soborg B, Jensen FK, et al.: Prednisolone treatment affects the performance of the QuantiFERON Gold In-Tube test and the tuberculin skin test in patients with autoimmune disorders screened for latent tuberculosis infection. *Inflamm Bowel Dis* 2011;DOI 10.1002/ibd.21605.
- 31- Bocchino M, Matarese A, Bellofiore B, Giacomelli P, Santoro G, Balato N, et al.: Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in patient candidates for anti-TNFalpha treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27:907-913
- 32- Sauzullo I, Mengoni F, Scrivo R, Valesini G, Potenza C, Skroza N, et al.:Evaluation of QuantiFERON-TB Gold In-Tube in human immunodeficiency virus infection and in patients candidates for anti-tumour necrosis factor-alpha treatment. *Int J Tuberc Lung Dis* 2010; 14:834-340.
- 33- Vassilopoulos D, Tsikrika S, Hatzara C, Podia V, Kandili A, Stamoulis N, et al.:Comparison of two gamma interferon release assays and tuberculin skin testing for tuberculosis screening in a cohort of patients with rheumatic diseases starting antitumor necrosis factor therapy. *Clin Vaccine Immunol* 2011;18:2102-2108.
- 34- Casas S, Andreu A, Juanola X, Bordas X, Alcaide F, Moure R, et al.:Diagnosis of tuberculosis infection by tuberculin skin test and a whole-blood interferon-gamma release assay in patients considered for anti-tumor necrosis factoralpha therapy. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;71:57-65.
- 35- Garcovich S, Ruggeri A, D'Agostino M, Ardito F, De Simone C, Delogu G, et al.: Clinical applicability of Quantiferon-TB-Gold testing in psoriasis patients during long-term anti-TNF-alpha treatment: a prospective, observational study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011;DOI:10.1111/j.1468-3083.2011.04220.x.

- 36- Laffitte E, Janssens JP, Roux-Lombard P, Thielen AM, Barde C, Marazza G, et al.: Tuberculosis screening in patients with psoriasis before antitumour necrosis factor therapy: comparison of an interferon-gamma release assay vs. tuberculin skin test. *Br J Dermatol* 2009;161:797-800.
- 37- Andrade Lima E, de Andrade Lima M, de Lorena VM, de Miranda Gomes Y, Lupi O, Benard G: Evaluation of an IFN-gamma assay in the diagnosis of latent tuberculosis in patients with psoriasis in a highly endemic setting. *Acta Derm Venereol* 2011;91:694-697.
- 38- Chiu HY, Hsueh PR, Tsai TF: Clinical experience of QuantiFERON((R)) –TB Gold testing in patients with psoriasis treated with tumour necrosis factor blockers in Taiwan. *Br J Dermatol* 2011;164:553-559.
- 39- Tavast E, Tuuminen T, Pakkanen SH: Immunosuppression Adversely Affects TST but Not IGRAs in Patients with Psoriasis or Inflammatory Musculoskeletal Diseases. *Int J Rheumatol*. 2012;2012:381929. Epub 2012 May 16
- 40- Haustein T, Ridout DA, Hartley JC, Thaker U, Shingadia D, Klein NJ, et al.: The likelihood of an indeterminate test result from a whole-blood interferon-gamma release assay for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children correlates with age and immune status. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28:669-673.
- 41- Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, Deeks J, Pathan AA, Lalvani A: Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study. *Lancet* 2004;364:2196-2203.
- 42- Latorre I, De Souza-Galvao M, Ruiz-Manzano J, Lacoma A, Prat C, Altet N, et al.: Evaluating the non-tuberculous mycobacteria effect in the tuberculosis infection diagnosis. *Eur Respir J* 2010;35:338-342.
- 43- Latorre I, Minguez S, Vilavella M, Diaz J, Carrascosa JM, Prat C, et al.: Detection of IFN-gamma responses for diagnosis of tuberculosis infection in chronic inflammatory disease patients. European Respiratory Congress 2011;Amsterdam:P:305.
- 44- Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new test for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med* 2007; 146:340-54.

- 45- De Souza M. Diagnóstico de la infección tuberculosa en inmunocompetentes a través de los iGRAs. Enf Emerg 2007; 9: 190-6.
- 46- Mofenson LM, Brady MT, Danner SP, Dominguez KL, Hazra R, Handelsman E, et al. Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections among HIV-exposed and HIV-infected children: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America, the Pediatric Infectious Diseases Society, and the American Academy of Pediatrics. MMWR Recomm Rep 2009; 58(RR-11):1-166.
- 47- NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence). Tuberculosis: clinical, diagnosis and management of tuberculosis and measures for its prevention and control. <http://www.nice.org.uk>.2006.
- 48- Canadian Tuberculosis Committee (CTC). Updated recommendations on interferon gamma release assays for latent tuberculosis infection. An Advisory Committee Statement (ACS). Can Commun Dis Rep. 2008 Oct; 34(ACS-6): 1-13.
- 49- Marco Mouriño A, Orcau Palau A, Jané Galliga R [Concordance of tuberculin tests and Interferon gamma release assays in the prison population]. Rev Esp Sanid Penit. 2011;13(1):15-20