

ACTAS Derma-Sifiliográficas

Full English text available at
www.elsevier.es/ad



NOVEDADES EN DERMATOLOGÍA

Técnicas basadas en la detección de IFN- γ en el diagnóstico de la infección tuberculosa en pacientes con psoriasis candidatos a terapias biológicas

J. Domínguez^{a,c,*}, M. Vilavella^b e I. Latorre^{a,c}

^a Servicio de Microbiología, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España

^b Servicio de Dermatología, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España

^c CIBER Enfermedades Respiratorias

Recibido el 14 de abril de 2012; aceptado el 20 de julio de 2012

Disponible en Internet el 1 de octubre de 2012

PALABRAS CLAVE

Tuberculosis;
Psoriasis;
Técnicas *in vitro*
del IFN- γ ;
Tuberculina;
Tratamiento
anti-TNF- α

KEYWORDS

Tuberculosis;
Psoriasis;
In vitro IFN- γ assay;
Tuberculin;
Anti-TNF- α treatment

Resumen Las terapias biológicas representan una alternativa de indudable eficacia en la psoriasis moderada y grave. Sin embargo, existe una asociación entre el tratamiento con anti-TNF- α y la reactivación de la infección tuberculosa. La tuberculina se utiliza como herramienta para el diagnóstico de la infección tuberculosa, pero presenta una baja especificidad en pacientes vacunados con la BCG (*Mycobacterium bovis* bacilo de Calmette-Guérin) y una baja sensibilidad en pacientes con alteraciones de la inmunidad celular. En este sentido se han desarrollado diferentes metodologías *in vitro* que incorporan antígenos específicos de *Mycobacterium tuberculosis* para estimular células T sensibilizadas y detectar posteriormente IFN- γ liberado para el diagnóstico *in vitro* de la infección tuberculosa. Los resultados obtenidos hasta ahora muestran a estas como una alternativa real a la tuberculina, ya que presentan una mayor especificidad y sensibilidad. Estas técnicas, además, están demostrando un elevado valor predictivo negativo que hace que nos podamos plantear a corto-medio plazo su utilización sin necesidad de combinarla con la tuberculina.

© 2012 Elsevier España, S.L. y AEDV. Todos los derechos reservados.

Interferon γ Assays in the Diagnosis of Tuberculosis Infection in Psoriasis Patients Who Are Candidates for Biologic Therapies

Abstract Although there is no doubt that biologic agents are an effective alternative for the treatment of moderate and severe psoriasis, anti-tumor necrosis factor α therapy has been associated with reactivation of latent tuberculosis infection. Tuberculin skin testing (TST) is used to diagnose tuberculosis infection but it has low specificity in patients who have received the *Mycobacterium bovis* BCG vaccine and low sensitivity in patients with altered cell-mediated immunity. In vitro assays based on the detection of interferon γ released by T cells

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jadomb@gmail.com (J. Domínguez).

stimulated by specific *Mycobacterium tuberculosis* antigens have emerged as an option for the diagnosis of tuberculosis infection. The results to date show that they are a viable alternative to TST thanks to their higher specificity and sensitivity. Furthermore, these assays are also proving to have high negative predictive value, meaning that we might be able to use them without TST in the short to medium term.

© 2012 Elsevier España, S.L. and AEDV. All rights reserved.

Introducción

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria de curso crónico, que afecta a un porcentaje elevado de la población y que puede presentarse de forma severa siendo causa importante de incapacidad laboral en edades medias de la vida, comportando un importante impacto personal y socioeconómico. Las terapias biológicas, especialmente las basadas en antagonistas del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), han aparecido como una opción terapéutica eficaz para esta enfermedad en aquellos casos en los que los tratamientos sistémicos clásicos son ineficaces o están contraindicados¹.

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^{2,3}. La principal vía de infección de *Mycobacterium tuberculosis* (*M. 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 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 segrega 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 tanto, es obligado antes de iniciar la terapia con anti-TNF- α descartar la infección tuberculosa, y por supuesto una eventual TB activa⁴.

Diagnóstico de la infección tuberculosa

La prueba de la tuberculina (PT) se ha utilizado durante los últimos 100 años como herramienta para el diagnóstico de la infección tuberculosa. La tuberculina se obtiene del filtrado del cultivo de *M. tuberculosis* esterilizado y concentrado. Actualmente 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 bioequivalente a la dosis recomendada (5 UT) de la tuberculina patrón internacional, la PPD-S⁵.

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 ha de comprobarse a las 48-72 h. Esta respuesta está mediada por células Th1 que migran al punto de inyección del 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.

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; y realizar una radiografía de tórax para descartar una TB activa o signos radiográficos sugestivos de una antigua TB, así como realizar una PT. Si la PT es positiva, considerando una induración ≥ 5 mm a las 72 h, se considerará que el individuo está infectado. Si la induración es < 5 mm, se debe realizar una nueva PT 2 semanas después (*booster*), considerando que el paciente está infectado si la induración de la segunda tuberculina es ≥ 5 mm⁵.

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* [*M. bovis*] bacilo Calmette-Guérin [BCG]) también responden inmunológicamente al PPD. Además, la PT presenta una baja sensibilidad en pacientes con alteraciones en la inmunidad celular; siendo en esta clase de pacientes en los que la PT es más necesaria, ya 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 previamente han recibido fármacos inmunosupresores clásicos y que pueden tener alterada su respuesta inmune.

Técnicas *in vitro* basadas en la liberación de IFN- γ

Un método de inmunodiagnóstico basado en la cuantificación *in vitro* de la respuesta inmune celular puede ser una alternativa a la PT para identificar la infección tuberculosa. En este sentido, en los últimos años, se han desarrollado diferentes métodos de cuantificación de esta respuesta

Tabla 1 Características de las técnicas de T-SPOT®.TB, QFN-G-IT y PT

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	PBMC	Sangre total	Inoculación intradérmica
Antígenos	ESAT-6 y CFP-10, por separado	ESAT-6, CFP-10 y TB7.7, en conjunto	PPD
Sistema de lectura	ELISPOT	ELISA	Induración
Unidades de lectura	N.º de células efectoras secretoras de IFN- γ	Unidades internacionales de IFN- γ liberado	Milímetros
Tipo de resultado	Positivo, negativo o indeterminado	Positivo, negativo o indeterminado	Positivo o negativo
Tiempo	18-24 h	18-24 h	48-72 h
Equipamiento de laboratorio	Sí	Sí	No
Reacción cruzada con la BCG	No	No	Sí
Reacción cruzada con MNT	No	No	Sí
Control interno de anergia	Sí	Sí	No
Efecto <i>booster</i>	No	No	Sí
Segunda visita del paciente	No	No	Sí

PBMC: células mononucleares de sangre periférica; PPD: derivado proteico purificado; PT: prueba de la tuberculina; QFN-G-IT: QuantiFERON®-TB Gold *In tube*; MNT: micobacterias no tuberculosas.

inmune celular utilizando diferentes antígenos micobacterianos para la estimulación de las células T sensibilizadas y para la detección *in vitro* de la liberación de IFN- γ . De esta forma, las células T sensibilizadas en los individuos infectados liberarán cantidades fácilmente detectables de IFN- γ tras ser estimuladas con los antígenos específicos de *M. tuberculosis*. Esta tecnología se ha basado en técnicas de ELISA y ELISPOT, que respectivamente han dado lugar a 2 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*.

La técnica QFN-G-IT estimula los linfocitos presentes en muestras de sangre total y determina la producción de IFN- γ mediante técnica de ELISA, mientras que la técnica T-SPOT®.TB requiere una separación previa de células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés) 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 PBMC. 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. En la [tabla 1](#) se muestra un resumen de las principales características de las técnicas *in vitro* y de la PT.

Rendimiento clínico de las técnicas del IFN- γ

Se ha descrito que las técnicas de inmunodiagnóstico *in vitro* son más específicas que la PT en pacientes vacunados con la BCG y que correlacionan mejor con la exposición a *M. tuberculosis*⁶⁻¹⁰. Asimismo, estudios publicados recientemente demuestran el valor pronóstico de estas técnicas en el desarrollo de TB activa¹¹⁻¹⁴. Por otro lado, existe además 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^{15,16}, como podrían ser los niños^{8,17,18}, los pacientes coinfectados con el VIH¹⁹⁻²³ y los pacientes en tratamiento con fármacos inmunosupresores²⁴⁻²⁶.

En este sentido, las técnicas basadas en la detección de IFN- γ 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. Este resultado implica una falta de respuesta de las células T del paciente. Un paciente con un resultado de la tuberculina negativo y un resultado indeterminado por las técnicas *in vitro* podría significar que se trata de un falso negativo de la tuberculina. 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^{8,27,28}. En la [figura 1](#) están representados los posibles resultados que se pueden obtener por la técnica de T-SPOT®.TB.

Rendimiento en pacientes con psoriasis que van a recibir tratamientos biológicos

Varios estudios han permitido evaluar la utilidad de las técnicas basadas en la detección de IFN- γ para el diagnóstico de la infección por *M. tuberculosis* en pacientes con

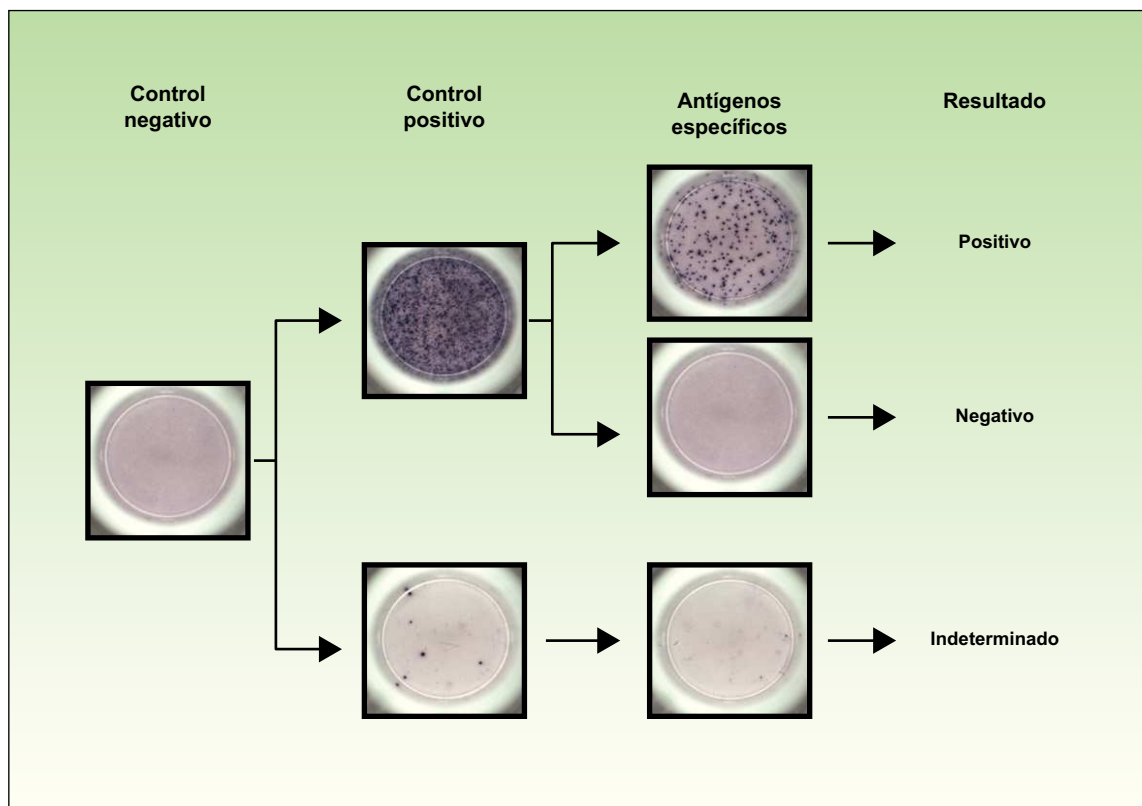


Figura 1 La técnica T-SPOT®.TB requiere una separación previa de células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés) para su estimulación y determina la presencia de IFN- γ mediante ELISPOT. Los antígenos específicos de *M. tuberculosis*, ESAT-6 y CFP-10, se emplean por separado para la estimulación de las PBMC. La presencia de células T reactivas se observa mediante la aparición de *spots* en el pocillo, que se cuentan de forma manual y/o con un lector automático de placas. Se considera que un resultado es positivo si la muestra presenta más de 6 *spots* para ESAT-6 o CFP-10 que en el control negativo, y este número es el doble que el del control negativo. El resultado de la técnica se considera indeterminado si el número de *spots* en el control positivo es menor que 20, y la respuesta a los antígenos específicos es negativa.

enfermedades inflamatoria crónicas que van a iniciar tratamientos biológicos^{26,29-36}. Sin embargo, algunos de estos estudios 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, o pacientes que ya estaban realizando tratamiento con anti-TNF- α . Todos estos factores dificultan conocer el papel de estas técnicas en el diagnóstico de la infección tuberculosa en pacientes con psoriasis candidatos a tratamiento con anti-TNF- α .

En este sentido, se han publicado recientemente estudios que exploran la utilidad de las técnicas basadas en la detección de IFN- γ en pacientes con psoriasis³⁷⁻⁴⁰. Estos trabajos confirman que las técnicas *in vitro* están menos afectadas que la tuberculina con la vacuna BCG³⁸. Por otro lado, De Andrade Lima et al.³⁹ observaron como la frecuencia de resultados positivos por PT, así como la induración, era mucho mayor en pacientes control (pacientes con enfermedades dermatológicas comunes, pero sin psoriasis), que en pacientes con psoriasis modeada-severa no tratados. En cambio, ni el número de resultados positivos por T-SPOT®.TB, ni el número de *spots* obtenidos, presentaron diferencias significativas entre ambos grupos de pacientes.

Los autores concluyen que el T-SPOT®.TB es superior a la PT en el diagnóstico de la infección tuberculosa latente en pacientes con psoriasis, probablemente debido a que la desregulación inmunológica propia de la psoriasis interfiere mucho menos con la técnica *in vitro*.

Valor predictivo de las técnicas del IFN- γ en la progresión a enfermedad

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 fármacos inmunosupresores y que tienen una PT positiva y unas técnicas *in vitro* negativas (independientemente de la vacuna de la BCG). 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. A pesar de que esta cuestión no está resuelta y, por lo tanto, lo más prudente sea utilizar la PT y las técnicas del IFN- γ de forma conjunta considerando infección cuando cualquiera de las 2 técnicas sea positiva, existen resultados preliminares que apuntan a que a corto-medio plazo podamos cambiar este planteamiento^{37,38,40}.

Laffitte et al.³⁸ estudiaron 50 pacientes con psoriasis previamente a iniciar tratamiento con anti-TNF- α . En todos ellos se realizó PT y T-SPOT[®].TB. En 28 casos ambas técnicas fueron negativas, en 12 casos fue positivo la PT, y negativo el T-SPOT[®].TB, y en 10 casos fue positivo el T-SPOT[®].TB (en 8 de estos casos también lo fue la PT). Ninguno de los 38 pacientes con T-SPOT[®].TB negativo que no recibieron profilaxis desarrolló TB en los 4 años siguientes. Garcovich et al.³⁷ estudiaron 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 Rx normal recibió profilaxis, y ninguno de ellos desarrolló TB en los 18 meses siguientes. También se realizaron determinaciones de QFN-G-IT durante los 12 meses siguientes al inicio del tratamiento biológico, observándose 3 conversiones a los 6 meses y 2 a los 12 meses. En 4 de estos casos fue posible pautar profilaxis y en el seguimiento posterior ninguno de ellos tampoco desarrollo TB. Finalmente, Chiu et al.⁴⁰ realizaron QFN-G 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 positivo, y del total de pacientes, únicamente desarrolló TB un paciente con QFN-G positivo que había rechazado la profilaxis.

Resultados indeterminados y discordantes de las técnicas del IFN- γ

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.³⁰ 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. En nuestra experiencia⁴¹, 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 son atribuibles a los diferentes tratamientos inmunosupresores que ya reciben los pacientes antes de iniciar los tratamientos anti-TNF- α .

Por lo que respecta a los resultados discordantes entre las técnicas 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, nuestro grupo ha descrito el papel que desempeñan las MNT en población pediátrica como posible factor de discordancia entre las técnicas *in vitro* y la PT^{17,42}.

Áreas de desarrollo en el futuro

Uno de los posibles retos en el campo de las técnicas basadas en la detección de IFN- γ , sería una mejora en su sensibilidad sin que se observase una disminución en la especificidad, y al mismo tiempo, una reducción de resultados indeterminados. En este sentido, recientemente se han estudiado nuevos

biomarcadores en el diagnóstico de la infección tuberculosa y la TB activa, que podrían incluir la utilización de nuevos antígenos^{43,44} y la detección de múltiples citocinas⁴⁵⁻⁴⁷ en nuevas generaciones de estas técnicas *in vitro*.

Conclusiones

En resumen, las técnicas *in vitro* de diagnóstico de la infección tuberculosa se muestran como una alternativa a la tuberculina, ya que presentan una mayor especificidad y sensibilidad, al no verse afectadas por la vacuna BCG ni por la sensibilización previa por MNT; y además, por estar menos afectadas por los tratamientos inmunosupresores. Aunque por el momento, priorizando la seguridad, en los pacientes con psoriasis candidatos a iniciar tratamientos anti-TNF- α resulta adecuado recomendar la determinación conjunta de ambas técnicas, dado que estas técnicas están demostrando un elevado valor predictivo negativo, es probable que a corto-medio plazo nos podamos plantear su utilización sin necesidad de combinarla con la tuberculina. Sin duda son necesarios más estudios que nos permitan tener un mejor conocimiento de estas técnicas y nos permitan diseñar estrategias personalizadas en el seguimiento de cada paciente.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiación

Este artículo ha sido financiado por el Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI: 10/00214). J. Domínguez es investigador financiado por el programa Miguel Servet del Instituto de Salud Carlos III.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Patel R, Cafardi JM, Patel N, Sami N, Cafardi JA. Tumor necrosis factor biologics beyond psoriasis in dermatology. *Expert Opin Biol Ther.* 2011;11:1341-59.
2. 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;3:148-55.
3. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwiertman WD, et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med.* 2001;345:1098-104.

4. Carmona L, Gómez-Reino JJ, Rodríguez-Valverde V, Montero D, Pascual-Gómez 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;52:1766–72.
5. 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;44:551–66.
6. Arend SM, Thijsen 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;175:618–27.
7. Ewer K, Deeks J, Álvarez 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;361:1168–73.
8. 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;367:1328–34.
9. 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;183:469–77.
10. Porsa E, Cheng L, Graviss EA. Comparison of an ESAT-6/CFP-10 peptide-based enzyme-linked immunospot assay to a tuberculin skin test for screening of a population at moderate risk of contracting tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2007;14:714–9.
11. Bakir M, Millington KA, Soysal A, Deeks JJ, Efee S, Aslan Y, et al. Prognostic value of a T-cell-based, interferon-gamma biomarker in children with tuberculosis contact. *Ann Intern Med.* 2008;149:777–87.
12. Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, Niemann S, Nienhaus A. Predictive value of a whole-blood IFN-gamma assay for the development of active TB disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177:1164–70.
13. Diel R, Loddenkemper R, Niemann S, Meywald-Walter K, Nienhaus A. Negative and positive predictive value of a whole-blood IGRA for developing active TB. An update. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183:88–95.
14. Hill PC, Jackson-Sillah D, Fox A, Brookes RH, De Jong BC, Lugos MD, et al. Incidence of tuberculosis and the predictive value of ELISPOT and Mantoux tests in Gambian case contacts. *PLoS ONE.* 2008;3:1379.
15. 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;2:250–4.
16. 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;3:309–27.
17. Altet N, De Souza-Galvao M, Latorre I, Milà C, Jiménez 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;37:1166–74.
18. Lalvani A, Millington KA. T cell-based diagnosis of childhood tuberculosis infection. *Curr Opin Infect Dis.* 2007;20:264–71.
19. 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;16:2285–93.
20. 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;19:2038–41.
21. Latorre I, Martínez-Lacasa X, Font R, Lacoma A, Puig J, Tural C, et al. IFN-gamma response on T-cell based assays in HIV-infected patients for detection of tuberculosis infection. *BMC Infect Dis.* 2010;10:348.
22. Richeldi L, Losi M, D'Amico R, Luppi M, Ferrari A, Muscini C, et al. Performance of tests for latent tuberculosis in different groups of immunocompromised patients. *Chest.* 2009;136:198–204.
23. 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;35:619–26.
24. 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;11:1177–82.
25. 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;140:709–13.
26. Mínguez S, Latorre I, Mateo L, Lacoma A, Díaz J, Olive A, et al. Interferon-gamma release assays in the detection of latent tuberculosis infection in patients with inflammatory arthritis scheduled for anti-tumour necrosis factor treatment. *Clin Rheumatol.* 2012;31:785–94.
27. Hausteil 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;28:669–73.
28. 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;364:2196–203.
29. Vassilopoulos D, Stamoulis N, Hadziyannis E, Archimandritis AJ. Usefulness of enzyme-linked immunospot assay (ELISPOT) compared to tuberculin skin testing for latent tuberculosis screening in rheumatic patients scheduled for anti-tumor necrosis factor treatment. *J Rheumatol.* 2008;35:1271–6.
30. 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;36:1876–84.
31. Bèlard 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;17:2340–9.
32. 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-TNF-alpha treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008;27:907–13.
33. Sauzzo I, Mengoni F, Scrivero 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;14:340–834.
34. Vassilopoulos D, Tsirikia 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 anti-tumor necrosis factor therapy. *Clin Vaccine Immunol.* 2011;18:2102–8.
35. 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 factor-alpha therapy. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;71:57–65.

36. Papay P, Eser A, Winkler S, Frantal S, Primas C, Miehsler W, et al. Predictors of indeterminate IFN-gamma release assay in screening for latent TB in inflammatory bowel diseases. *Eur J Clin Invest.* 2011;41:1071–6.
37. Garcovich S, Ruggieri 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, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2011.04220.x> [Epub ahead of print].
38. 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.
39. De 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;91:694–7.
40. Chiu HY, Hsueh PR, Tsai TF. Clinical experience of QuantiFERON®-TB Gold testing in patients with psoriasis treated with tumour necrosis factor blockers in Taiwan. *Br J Dermatol.* 2011;164:553–9.
41. Latorre I, Mínguez S, Vilavella M, Díaz J, Carrascosa JM, Prat C, et al. Detection of IFN-gamma responses for diagnosis of tuberculosis infection in chronic inflammatory disease patients. Amsterdam: European Respiratory Congress; 2011. p. 305.
42. Latorre I, De Souza-Galvao M, Ruiz-Manzano J, Lacombe A, Prat C, Altet N, et al. Evaluating the non-tuberculous mycobacteria effect in the tuberculosis infection diagnosis. *Eur Respir J.* 2010;35:338–42.
43. Goletti D, Carrara S, Mayanja-Kizza H, Baseke J, Mugerwa MA, Girardi E, et al. Response to *M. tuberculosis* selected RD1 peptides in Ugandan HIV-infected patients with smear positive pulmonary tuberculosis: a pilot study. *BMC Infect Dis.* 2008;8:11.
44. Liu XQ, Dosanjh DP, Varia H, Ewer K, Cockle P, Pasvol G, et al. Evaluation of T-cell responses to novel RD1- and RD2-encoded *Mycobacterium tuberculosis* gene products for specific detection of human tuberculosis infection. *Infect Immun.* 2004;72:2574–81.
45. Millington KA, Innes JA, Hackforth S, Hinks TS, Deeks JJ, Dosanjh DP, et al. Dynamic relationship between IFN-gamma and IL-2 profile of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells and antigen load. *J Immunol.* 2007;178:5217–26.
46. Ruhwald M, Bodmer T, Maier C, Jepsen M, Haaland MB, Eugen-Olsen J, et al. Evaluating the potential of IP-10 and MCP-2 as biomarkers for the diagnosis of tuberculosis. *Eur Respir J.* 2008;32:1607–15.
47. Ruhwald M, Domínguez J, Latorre I, Losi M, Richeldi L, Pasticci MB, et al. A multicentre evaluation of the accuracy and performance of IP-10 for the diagnosis of infection with *M. tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb).* 2011;91:260–7.