
Diagnóstico de la infección tuberculosa

Diagnosis of tuberculosis infection

J. A. Cascante, I. Pascal, V. M. Eguía, J. Hueto

RESUMEN

La prevalencia de infección tuberculosa varía de unos países a otros, siendo la estimada en adultos en España del 25%. La técnica habitual para su diagnóstico, pese a su antigüedad, es la tuberculina. Todavía hoy, esta prueba continúa estando vigente en la mayoría de los países. En los últimos años se han desarrollado dos métodos de inmunodiagnóstico que, a través de la cuantificación *in vitro* del interferón- γ liberado por los linfocitos T sensibilizados, nos permiten diagnosticar en un laboratorio la infección obviando todos los problemas derivados de la administración de la tuberculina. En los estudios de contactos realizados se ha visto que estas técnicas se correlacionan mejor con el grado y duración de la exposición a *Mycobacterium tuberculosis* y que la vacunación previa con BCG no interfiere en sus resultados lo que sin duda alguna redundará en una reducción del número de quimioprofilaxis innecesarias.

Palabras clave. Tuberculina. Diagnóstico. Infección. Tuberculosis. quantiFERON. T-SPOT-TB.

ABSTRACT

The prevalence of tuberculosis infection varies between countries, with an estimate in adults in Spain of 25%. The technique for its diagnosis, in spite of its antiquity, is tuberculin. Even today, this test continues to be in use in the majority of countries. In recent years two methods of immunodiagnosis based on detection of IFN- γ released by T cells in response to *M. tuberculosis*-specific antigens, enables us to diagnose the infection in a laboratory without all of the problems deriving from the administration of tuberculin. From the contact studies made it has been shown that these techniques correlate better with the degree and duration of exposure to *Mycobacterium tuberculosis* and that prior vaccination with BCG does not interfere with their results, which without doubt will result in a reduction in the number of unnecessary chemoprophylaxis.

Key words. Tuberculin. Diagnosis. Infection. Tuberculosis. QuantiFERON. T-SPOT.TB.

An. Sist. Sanit. Navar. 2007; 30 (Supl. 2): 49-65.

Servicio de Neumología. Hospital Virgen del Camino. Pamplona.

Correspondencia:
José Antonio Cascante
Servicio de Neumología
Hospital Virgen del Camino
C/ Irunlarrea, 4
31008 Pamplona
E-mail: casro@separ.es

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA

La tuberculosis está producida por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis* y se transmite, de forma mayoritaria por vía aérea, a través de las gotitas de *pflügge* de paciente con enfermedad activa a individuo sano. Otras vías menos frecuentes de contraer la enfermedad son la digestiva, urogenital, cutánea o mucosas lesionadas.

Una vez que los bacilos dependiendo del potencial de infectividad llegan al organismo, y fundamentalmente al alvéolo, se produce una respuesta inflamatoria constituida por macrófagos que fagocitan los bacilos; se liberan citocinas que atraen neutrófilos, macrófagos y linfocitos T, que a su vez segregan factor de necrosis tumoral alfa e interferón-gamma. Esta situación de respuesta inmunitaria al bacilo constituye la infección tuberculosa.

Posteriormente el bacilo puede permanecer latente en los macrófagos sin producir síntomas (infección tuberculosa latente), o progresar a enfermedad (5-10 % de los infectados). Se estima que de cada 100 personas expuestas a *M. Tuberculosis* por contactos conocidos, sólo 50 se van a infectar. El individuo infectado es un "enfermo tuberculoso en potencia"; aquí radica uno de los pilares del control de la enfermedad en los países desarrollados.

Para el diagnóstico de la infección tuberculosa se ha utilizado en los últimos 100 años la prueba de la tuberculina; dados los inconvenientes que presenta, y que posteriormente se expondrán, así como la baja sensibilidad y especificidad en determinados individuos, han aparecido en los últimos años, métodos de cuantificación de la respuesta inmunitaria, que parecen prometedores.

La incidencia de la infección tuberculosa varía de unos países a otros. En España se habla de una prevalencia de infectados de 3% a los 7 años y 25% en adultos, cifras que probablemente se han de modificar en los próximos años por el aumento de la inmigración¹.

PRUEBA DE LA TUBERCULINA

Es la técnica habitual para diagnosticar la infección tuberculosa y constituye uno de

los temas de los que más se ha escrito en la historia de la medicina y que mayor interés y polémica ha suscitado²; pone de manifiesto, tras la inyección de un derivado proteico un estado de hipersensibilidad previo del organismo frente a dicha sustancia. Inicialmente, la tuberculina de Koch se extraía de cultivo hervido de bacilos. En la actualidad se emplea la PPD (derivado proteico purificado) obtenido tras el filtrado de cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* esterilizado y concentrado. La tuberculina utilizada en Europa es la PPD RT-23. En EEUU existen dos preparaciones, Aplisol y Tubersol, ambas con respuesta similar a la RT-23. El principal inconveniente de la PPD radica en que las proteínas utilizadas no son específicas del *Mycobacterium tuberculosis*, sino que son compartidas con otras Mycobacterias no tuberculosas, hecho que disminuye la especificidad de dicha prueba.

Últimamente se ha aislado la secuencia genética de PPD específica de *Mycobacterium tuberculosis* (PPD recombinante)³ que pudiera detectar falsos positivos en infección por *Mycobacterium tuberculosis*. Este método aún no se ha comercializado.

Técnica de la prueba de la tuberculina

Existen dos métodos: mantoux y el test de pinchazos múltiples^{4,5}.

La técnica del mantoux consiste en la inyección intradérmica con una aguja del calibre 27 en la cara anterior del antebrazo, (0'1 ml) de 2 unidades tuberculina PPD RT-23, en una zona donde no existan lesiones cutáneas. Debe producirse una pápula de 6-10 mm de diámetro para que la técnica sea correcta. Es el método más habitual de la prueba de la tuberculina (PT).

El test de pinchazos múltiples se realiza también en el antebrazo con púas impregnadas en tuberculina. Dado que no se sabe la cantidad de tuberculina que penetra en la piel, se considera una técnica inadecuada.

BASE INMUNOLÓGICA DE LA PRUEBA TUBERCULÍNICA

El individuo infectado con el bacilo tuberculoso reacciona a la PT con una res-

puesta de hipersensibilidad retardada mediada por células (sobre todo linfocitos T), apareciendo a las 48-72 horas de la inyección, una induración en la zona. Esta respuesta de hipersensibilidad permanece de por vida aunque en el anciano así como en ciertas alteraciones clínicas puede verse disminuida. El hecho de realizarse PT de repetición en un individuo no sensibilizado, no desencadena por sí mismo la respuesta inmunitaria.

Lectura e interpretación de la prueba de la tuberculina

A las 72 horas de la inyección se realiza la lectura midiendo el diámetro transversal de la induración según el eje longitudinal del antebrazo. El resultado se da en milímetros. En el caso de no existir induración sino únicamente eritema, se interpreta como 0 mm.

En la lectura diagnóstica se tendrá en cuenta, no sólo el tamaño, sino también la situación clínica del individuo.

En España según la Sociedad de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) se considera positiva una induración⁶:

- En personas no vacunadas ≥ 5 mm.
- En personas vacunadas con BCG se plantea el problema de discernir ante una induración tuberculínica, el que se trate de una infección tuberculosa, o bien una respuesta a antígenos compartidos entre la vacuna de BCG (*M. bovis*) y PPD, dado que esta última presenta antígenos no exclusivos de *Mycobacterium tuberculosis*. En esta situación se tienen en cuenta determinadas condiciones clínicas, considerando PT positiva con diámetro >5 mm si además de vacunados son convivientes o mantienen contactos frecuentes con pacientes bacilíferos, portadores de radiología de tórax con lesiones sugestivas de tuberculosis antiguas y nunca tratados, infectados por VIH o silicóticos.
- En el resto de vacunados con BCG si el tamaño de la induración es >15 mm.

Se considera una PT de alto valor predictivo negativo de infección cuando el tamaño del diámetro de la induración es

menor a los valores descritos previamente; no obstante, si en estos casos las personas están vacunadas con BCG o son mayores de 65 años, se les debe repetir la prueba a los 7-10 días (efecto Booster) y ese será el resultado que se acepte.

Con respecto a la vacunación con BCG, y pese a ser ésta una vacuna en desuso en nuestro país, algunas personas vacunadas pueden tener reacciones a la tuberculina similares a las producidas por infección tuberculosa. En general, esta reacción vacunal no es mayor de 14 mm y se considera que cuanto mayor sea el tamaño y más tiempo haya pasado desde la vacunación, es más probable que se trate de una infección tuberculosa y no de una reacción vacunal (los estudios en este sentido indican que la interferencia de la BCG sobre la reacción tuberculínica puede ser despreciable pasados 10-15 años de la vacunación).

Cuanto mayor sea la probabilidad de estar infectado o de desarrollar enfermedad, por ejemplo en los casos de contactos recientes o de infectados por el VIH, menos debe influir el antecedente de la vacunación en la interpretación de la prueba.

En pacientes VIH +, una PT menor de 5 mm, debido a la situación de anergia por el compromiso inmunitario, no debe excluir el diagnóstico de infección.

Las reacciones tuberculínicas con vesiculación o necrosis en la zona de inoculación también se consideran indicativas de infección tuberculosa, independientemente del tamaño de la induración o antecedente vacunal.

Cuando se trata de un estudio de contactos la interpretación se simplifica bastante ya que no se debe tener en cuenta el antecedente vacunal y considerar una induración mayor de 5 mm como indicativa de infección tuberculosa.

FALSOS POSITIVOS Y NEGATIVOS DE LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA

La PPD está constituida por antígenos no exclusivos de *Mycobacterium tuberculosis* compartidos por otras micobacterias no tuberculosas (*M. bovis*, *M. avium*...), hecho que pudiera ser responsable de fal-

sos positivos ante un individuo con PT positiva. Existen otras situaciones, como inadecuada técnica con formación de hematoma, o infección, que a su vez podrían alterar la interpretación de la prueba (Tabla 1).

Existen determinadas circunstancias dependientes del individuo que pueden desencadenar falsos negativos de la PT tales como: infección viral concurrente, vacunaciones con virus vivos, situaciones de inmunosupresión o tratamiento con fármacos que disminuyan la respuesta inmunitaria; las edades extremas de la vida

como recién nacidos en quienes dada la inmadurez del sistema inmune, hasta los 6 meses de vida no existe una respuesta adecuada a la tuberculina; en ancianos la respuesta inmune se debilita y puede interpretarse como falso negativo; al repetirse la técnica pasada una semana, se pone de manifiesto la positividad (efecto Booster o empuje).

A su vez, una PPD en malas condiciones así como una inadecuada técnica del mantoux tanto en su administración como en su lectura, pueden llevar a falsos negativos de la PT (Tabla 2).

Tabla 1. Falsos positivos de la prueba de la tuberculina.

-
1. Individuos vacunados con BCG (cepas atenuadas de *M. bovis*).
 2. Infección por MAO (Mycobacterias ambientales oportunistas).
 3. Individuos no sensibilizados a *M. tuberculosis* que reciben transfusiones sanguíneas de sensibilizados.
 4. Rotura de vaso o infección en la zona de inyección.
-

Tabla 2. Falsos negativos de la prueba de la tuberculina.

Relacionado con el individuo al que se le realiza la PT:

1. Infecciones víricas: VIH, varicela, sarampión, parotiditis.
2. Infecciones bacterianas: fiebre tifoidea, brucelosis, lepra, tosferina, tuberculosis pleural y diseminada.
3. Infecciones fúngicas: blastomycosis.
4. Vacunaciones con virus vivos: sarampión, parotiditis, varicela.
5. Alteraciones metabólicas: insuficiencia renal crónica.
6. Alteraciones del estado proteico: depleción proteica severa, afibrinogenemia.
7. Enfermedades de los órganos linfoides: linfomas, leucemia linfocítica crónica, sarcoidosis.
8. Fármacos: corticoides y otros inmunosupresores.
9. Edad: recién nacidos y ancianos.
10. Situaciones de estrés: cirugía, quemados, enfermedad mental, reacción injerto contra huésped.

Relacionado con la tuberculina utilizada:

1. Almacenamiento inadecuado (exposición a la luz y al calor).
2. Diluciones inapropiadas.
4. Desnaturalizaciones químicas.
5. Contaminación.
6. Adsorción (parcial control con Tween 80).

Relacionado con el método de administración:

1. Inyección de cantidad insuficiente.
2. Inyección subcutánea.
3. Administración tardía una vez extraída del vial.
4. Inyección muy superficial con rotura de la vesícula formada y pérdida del líquido.
5. Inyección en una zona inflamada y vascularizada difundiéndose el líquido.

Relacionado con la lectura:

1. Inexperiencia del lector.
 2. Lectura inadecuada.
-

Fenómeno Booster o de empuje

En algunos individuos una primera prueba puede ser leída como negativa y repetido el test a los 7-10 días positiva. Este fenómeno se debe a una respuesta inmunitaria disminuida, en pacientes ancianos infectados años antes o en vacunados en la infancia, que se pone de manifiesto tras el segundo test. El resultado definitivo de la prueba es la segunda lectura. Puede ser causa de falsos negativos.

Conversión tuberculínica

Es la situación en la que un individuo con PT conocida como negativa pasa a positiva, habiendo descartado previamente el efecto Booster. Representa la adquisición de la infección tuberculosa.

Se define como "convertor" aquella persona que presenta una conversión o viraje tuberculínico reciente; de forma operativa se le define como el individuo que pasa de tener una tuberculina menor de 5 mm a mayor o igual de 5 mm con una diferencia de al menos 5 mm en menos de 2 años.

Indicaciones de la prueba de la tuberculina

La PT, como toda prueba diagnóstica, tan solo debería ser usada en aquellas personas en que de su resultado pueda derivarse una intervención terapéutica. En la tuberculosis sólo existen dos posibilidades de intervención terapéutica, la del tratamiento de los enfermos y la de la quimioprofilaxis o tratamiento preventivo de los infectados con alto riesgo de padecer

tuberculosis². En la tabla 3 se exponen las indicaciones de la PT según la SEPAR⁶.

En la población general no sintomática no está aconsejada su utilización como método de cribaje.

Actitud ante la prueba de la tuberculina

Tras la lectura de la PT, si es diagnóstica de infección, se descartará enfermedad tuberculosa mediante radiología de tórax, estudio microbiológico y exploración del individuo. Una vez descartada, se valorará el tratamiento quimioprofiláctico.

Ante una PT no diagnóstica de infección, en individuo no vacunado menor de 55-65 años, se dará como test negativo. Si es mayor de 55-65 años, se repetirá la prueba pasados 7-10 días (efecto Booster), y se interpretará esta segunda lectura como definitiva.

Si la PT no es diagnóstica de infección en individuo vacunado, se repetirá el test a los 7-10 días independiente de la edad.

NUEVAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO "IN VITRO" DE LA TUBERCULOSIS

Durante los últimos 100 años, la PT ha constituido el único método disponible en la práctica clínica para determinar la infección tuberculosa. Este test, introducido en 1890, es el test diagnóstico más viejo en uso, y como se ha comentado, mide la respuesta inmune celular retardada a nivel cutáneo tras la administración de PPD, que contiene una mezcla de antígenos comparados por varias micobacterias. Sin embar-

Tabla 3. Indicaciones de la prueba de la tuberculina.

-
1. Individuos con sospecha clínica de enfermedad tuberculosa.
 2. Individuos con alto riesgo de progresión de infección a enfermedad tuberculosa debido a sus condiciones médicas: VIH, ADVP, tratamiento inmunodepresor, silicosis, diabetes mellitus, enfermedades malignas hematológicas, insuficiencia renal crónica, alcoholismo, desnutrición, gastrectomía, receptor de órgano sólido.
 3. Individuos con riesgo social si desarrollan tuberculosis: personal sanitario, trabajadores de prisiones, educadores, personal de laboratorio, inmigrantes procedentes de países con altas tasas de infección.
 4. Individuos con lesiones no evolutivas en radiología de tórax sugestivas de tuberculosis.
 5. Estudios epidemiológicos.
-

go, en los últimos años se han investigado y aprobado nuevos métodos diagnósticos basados en la cuantificación “in vitro” de la respuesta inmune celular. Estos métodos, denominados genéricamente en la literatura anglosajona con el acrónimo de IGRA (*interferon- γ release assays*) detectan la liberación de interferon- γ en respuesta a antígenos micobacterianos.

Respuesta inmune frente a la infección tuberculosa

Una de las moléculas más importantes en el control de la tuberculosis es el interferón- γ . Esta citoquina, producida por los linfocitos T CD4+, CD8+ y NK, activa a los macrófagos infectados con la consiguiente liberación de IL-1 y TNF- α que limitan el crecimiento y multiplicación de las micobacterias. Aunque la producción de interferón- γ *per se*, es insuficiente en el control de la tuberculosis, su participación es imprescindible en la respuesta inmune protectora frente a dicho microorganismo. Los individuos con deficiencias en los receptores o en los genes de esta molécula son más susceptibles de padecer infeccio-

nes micobacterianas más frecuentes y más graves.

Tipos de IGRA

Existen dos técnicas “in vitro” para el diagnóstico de la infección tuberculosa: el *quantiferon-TB* (Cellestis, Victoria y Australia) y el *T-SPOT.TB* (Oxford Immunotec, Oxford, UK)⁷.

La primera generación de *quantiferon-TB*, aprobada por la FDA en el año 2001, medía la liberación de interferón- γ en respuesta a PPD. En el año 2004, la FDA aprobó la segunda generación de este test diagnóstico, denominada *quantiferon-TB Gold*, que a diferencia de la primera generación, no utiliza como antígenos micobacterianos el PPD, sino antígenos más específicos como son el *Early Secretory Antigen Target* (ESAT-6) y el *Culture Filtrate Protein 10* (CFP-10). Estas 2 moléculas, codificadas por la región RD-1 del genoma del *Mycobacterium tuberculosis*, incrementan significativamente la especificidad con respecto al PPD. Estos antígenos están ausentes en todas las cepas que contiene la vacuna de la BCG y en la mayoría de la micobacterias no tuberculosas (Tabla 4). En la actualidad

Tabla 4. Especificidad de especie de ESAT-6 y CFP-10 en las micobacterias.

Complejo micobacterium complex	Antígenos		Micobacterias ambientales	Antígenos	
	ESAT-6	CFP-10		ESAT-6	CFP-10
<i>M. tuberculosis</i>	+	+	<i>M. abscessus</i>	-	-
<i>M. africanum</i>	+	+	<i>M. avium</i>	-	-
<i>M. bovis</i>	+	+	<i>M. branderi</i>	-	-
Cepas contenidas en vacuna			<i>M. celatum</i>	-	-
gothenburg	-	-	<i>M. chelonae</i>	-	-
moreau	-	-	<i>M. fortuitum</i>	-	-
tice	-	-	<i>M. gordonii</i>	-	-
tokyo	-	-	<i>M. intracellulare</i>	-	-
danish	-	-	<i>M. kansasii</i>	+	+
glaxo	-	-	<i>M. malmoense</i>	-	-
montreal	-	-	<i>M. oenavense</i>	-	-
pasteur	-	-	<i>M. scrofulaceum</i>	-	-
	-	-	<i>M. smegmatis</i>	-	-
			<i>M. szulgai</i>	+	+
			<i>M. terrae</i>	-	-
			<i>M. xenopi</i>	-	-

ya se están realizando trabajos con la tercera generación de este test, denominada quantiFERON-Gold in Tube (QFT-G IT), que incorpora un tercer antígeno micobacteriano: el TB 7.7, aunque todavía no ha sido aprobado para su uso.

El T-SPOT.TB está aprobado para su uso en Europa y Canadá y se encuentra en fase de evaluación para su aprobación por la FDA.

Realización e interpretación de los test

1. QuantiFERON-TB- γ Gold (QFT-TB Gold): la prueba se realiza incubando 1 ml de sangre periférica anticoagulada con heparina -no sirve otro anticoagulante- en cada uno de los cuatro pocillos que contienen los diferentes antígenos: suero salino como control negativo; fitohemaglutinina como control positivo, para medir la capacidad de linfoproliferación de los lin-

focitos de cada paciente; y los antígenos ESAT-6 y CFP-10. La sangre se debe incubar con estos antígenos antes de las siguientes doce horas de su extracción. Siguiendo un periodo de incubación durante 16-24 h a una temperatura de 37°C, se determina la concentración de interferón- γ en el plasma mediante una técnica de ELISA. Los resultados deben ser calculados usando un software proporcionado por el fabricante.

2. T-SPOT.TB: se basa en el mismo principio que el QFT-TB Gold; la identificación de linfocitos T productores de interferón- γ en respuesta a ESAT-6 y CFP-10. Al igual que con el QFT-TB Gold se requieren cuatro pocillos por paciente y utiliza los mismos antígenos y controles; sin embargo, a diferencia de éste, no utiliza sangre total sino que precisa la separación previa de células mononucleares para su estimulación, y la presencia de interferón- γ se determina por ELISPOT en lugar de ELISA (Fig. 1). En cada pocillo se debe añadir un

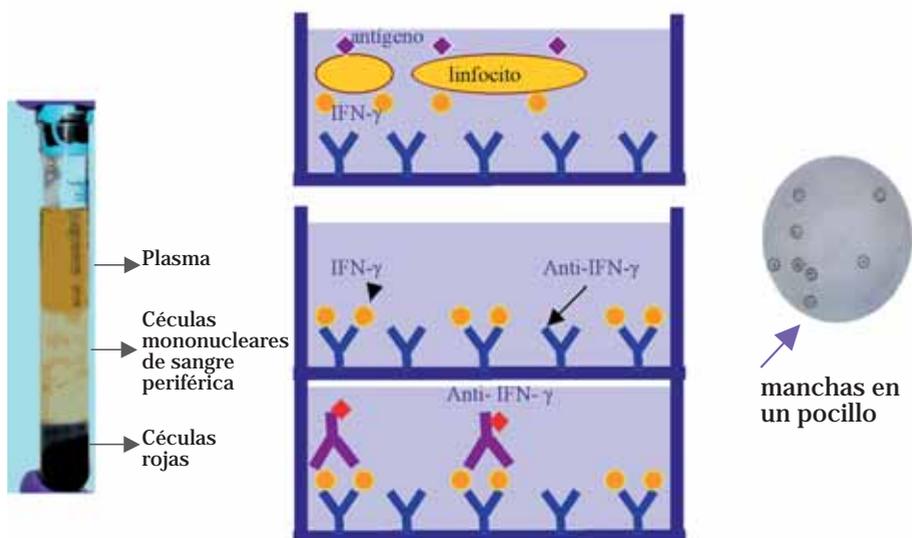


Figura 1. Principios del procedimiento de T-Spot.TB. Se separan los mononucleares de sangre periférica de una muestra de sangre total. Se añaden las células y los antígenos a los pocillos de microtitulación. El IFN- γ secretado por los linfocitos T es capturado por los anticuerpos específicos antiIFN- γ presentes en los pocillos. Se añade un segundo anticuerpo dirigido contra un epítopo diferente de la molécula de IFN- γ . Todo conjugado no ligado se elimina mediante lavado. Posteriormente se añade un sustrato soluble que será escindido por una ligasa para formar una mancha de precipitado insoluble en el punto de reacción. Cada mancha representa la huella de un linfocito T sensibilizado frente a *M. tuberculosis* productor de IFN- γ .

número adecuado de células, de lo contrario la interpretación sería incorrecta. El número de mononucleares por pocillo será de $2,5 \times 10^5$. De acuerdo con las instrucciones del fabricante, la sangre se procesará en el intervalo de ocho horas tras su recogida y no se deberá refrigerar ni congelar las muestras de sangre total. Los resultados se contabilizan como *spot forming cells* o células productoras de mancha (Fig. 2). Cada mancha representa la huella de un linfocito T individual secretor de interferón- γ , y la evaluación del número de manchas obtenidas, determina la abundancia de linfocitos T sensibles a *M. tuberculosis* en sangre periférica. Técnicamente, T-SPOT.TB, requiere más sangre, mayor tiempo de preparación y es más difícil de realizar que QFT-TB Gold, pero parece ser más sensible.

Las guías recomendadas por los fabricantes de estos test para su interpretación son las expresadas en las tablas 5 y 6^{8,9}.

Ventaja de los IGRA sobre la tuberculina

Las nuevas técnicas de diagnóstico "in vitro" de la tuberculosis ofrecen impor-

tantes ventajas sobre la PT: evita la subjetividad de la interpretación; la obtención de los resultados es rápida y pueden estar disponibles en 24 horas; si es necesario, la determinación puede repetirse inmediatamente sin temor a efecto Booster; evita la visita de lectura; tienen control interno positivo, que proporciona valiosa información a la hora de interpretar un test aparentemente negativo como verdadero negativo o indeterminado como resultado de errores técnicos o por la inmunosupresión.

Sensibilidad y especificidad

Es difícil, en ausencia de una prueba de referencia en el diagnóstico de la infección tuberculosa, debido a los problemas de falsos positivos y negativos de la prueba de la tuberculina, establecer la sensibilidad y especificidad de estos nuevos test diagnósticos. Para solventar el problema de la sensibilidad se han utilizado tres estrategias: 1. evaluar a los pacientes que tienen una tuberculosis activa y por lo tanto deben estar infectados; 2. evaluar a los individuos que han estado en contacto con pacientes tuberculosos y estratificarlos en

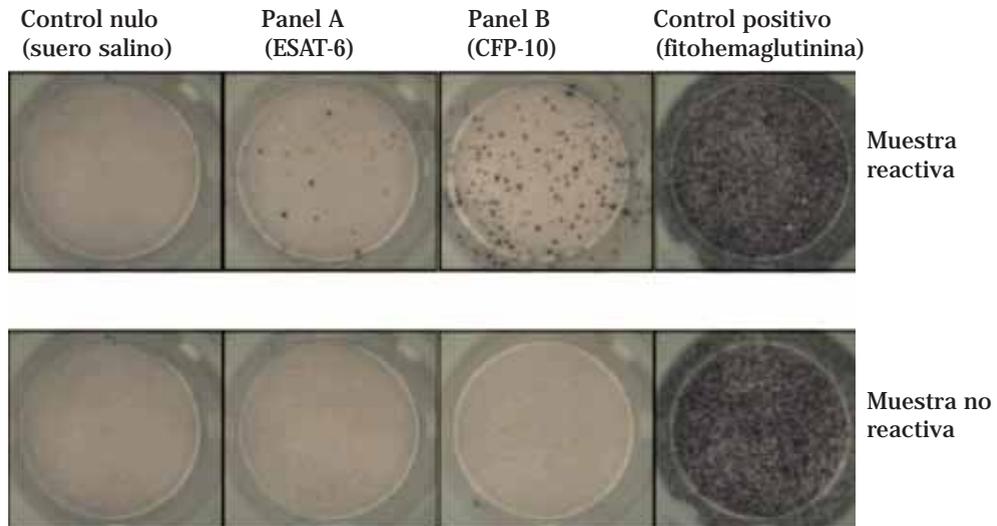


Figura 2. T-SPOT-TB. Incubación de las células mononucleares en los cuatro pocillos con los antígenos específicos.

Tabla 5. Interpretación T-SPOT.TB.

El resultado de la prueba será "reactivo" si uno o ambos paneles A y B responden de acuerdo con los siguientes criterios:

Si el control nulo tiene 0-5 manchas, la muestra será reactiva si: (recuento de manchas del panel A o del panel B) (recuento de manchas del control nulo) ≥ 6 .

Si el control nulo tiene ≥ 6 manchas, la muestra será reactiva si: (recuento de manchas del panel A o del panel B) $\geq 2x$ (recuento de manchas del control nulo).

Si ninguno de los pocillos del control positivo, panel A y panel B es reactivo, se repetirá la prueba para confirmar los resultados.

Debido a las posibles variaciones biológicas y sistemáticas, un intervalo de recuentos de manchas entre 5 y 7 puede considerarse como "zona gris" y puede indicar la necesidad de considerar dicho resultado como "indeterminado".

Tabla 6. Interpretación de los resultados del QFT-G.

Interpretación QFT-TB-G			
Mitógeno-nulo IU/ml	ESAT6-nulo y/o CFP10-nulo IU/ml	Resultado QFT-G	Interpretación
$\geq 0,5$	$\geq 0,35$	Positivo	Probable infección por TBC
$< 0,5$ IU/ml	$\geq 0,35$	Positivo	Probable infección por TBC
$< 0,35$ IU/ml	$< 0,35$	Negativo	Infección improbable por TBC
$\leq 0,5$	$< 0,35$	Indeterminado	Resultado no válido

La diferencia entre el mitógeno y el valor nulo debe ser $\geq 0,5$ y/o ESAT-nulo o CFP10-nulo $\geq 0,35$ IU/ml para que un individuo tenga un resultado válido.

función del grado de exposición y 3. concordancia entre los IGRA y el test de la tuberculina.

a. *Sensibilidad utilizando la tuberculosis activa como marcador de infección.* En un reciente meta-análisis, Menzies y col evaluaron todos los estudios publicados hasta octubre del 2006 que han comparado el T-Spot-TB (ocho estudios que han incluido un total de 424 pacientes) y el QFT-TB-G (nueve estudios con 393 pacientes) con la prueba de la tuberculina utilizando un punto de corte ≥ 5 mm (nueve estudios con 303 pacientes) en el diagnóstico de la tuberculosis activa¹⁰. Los tres test tienen una sensibilidad subóptima, situándose por debajo del 90%, alcanzando el 87% en el caso del T-Spot-TB y el 80% con el QFT-TB-G, porcentaje idéntico al obtenido con la tuberculina. En los últimos 2 años han visto la luz tres estudios que han evaluado el quantiFERON de 3ª generación en esta situación, y llamativamente la sensibilidad global es inferior al quantiFERON de 2ª

generación, alcanzando tan sólo el 67%. Estos trabajos apoyan las recomendaciones de los *Centers for Disease Control* que señalan que por razones de sensibilidad, un QFT-TB-G negativo no debería utilizarse para descartar una TBC activa¹¹.

b. *Sensibilidad utilizando el gradiente de exposición como indicador de la probabilidad de tener una infección tuberculosa y concordancia con tuberculina.* En un trabajo de contactos realizado en Dinamarca, país con una baja incidencia de TBC ($< 10/10^5$), se incluyeron 125 pacientes que habían estado en contacto con una paciente diagnosticada de tuberculosis en una escuela¹². De los contactos, 85 no habían recibido la vacuna de la tuberculosis. El 56% de los contactos con alta exposición y no vacunados previamente, tenían una tuberculina positiva y el 53% un quantiFERON-TB-Gold positivo. En este grupo de pacientes el nivel de concordancia de ambas pruebas fue del 93%. En los individuos vacunados, independiente-

mente del nivel de exposición, no se determinó la tuberculina de acuerdo a las normas danesas. En 40 pacientes con baja exposición y no vacunados, el 10% tenían una tuberculina positiva frente al 5% de positividad registrada con el test sanguíneo.

Kang y col evaluaron en un estudio prospectivo realizado en Korea, país donde la incidencia de tuberculosis pulmonar activa es intermedia (92/10³) y la vacunación con BCG es obligatoria, a un total de 273 pacientes de los cuales 220 (95,7%) habían recibido previamente la vacuna¹³. Los dividió en 4 grupos en función del riesgo de infección: el grupo 1 eran estudiantes de medicina sin factores de riesgo identificables de exposición a la tuberculosis; el grupo 2, estaba constituido por personal sanitario que habían tenido contacto casual con enfermos tuberculosos; el grupo 3 lo integraban individuos que habían tenido contacto en su casa o trabajo con individuos bacilíferos durante más de 8 horas por día y el grupo 4 eran pacientes con TBC activa. A cada paciente les realizó una PT, que

se consideró positiva cuando el tamaño de la induración era ≥ 10 mm y un test de QTF-TB-G. Los resultados de la prueba cutánea y de la sanguínea pueden observarse en la figura 3. El odds ratio de un resultado positivo se incrementa significativamente por 5,31 a medida que aumenta el riesgo de infección en cada grupo cuando la valoración se realiza con QTF-TB-G, mientras que se incrementa tan sólo 1,52 cuando la valoración se realiza con la PT en la población vacunada.

Richeldi y col estudiaron a 92 personas que habían estado en contacto con una parturienta diagnosticada de TBC multirresistente mediante baciloscopia de esputo¹⁴. Tan sólo 10 contactos habían sido vacunados previamente. Al analizar la prevalencia de cada prueba positiva en función del tipo de contacto, comprobó que tan sólo 1 de las 9 personas (11%) que habían compartido la misma habitación con el caso índice tenían una PT positiva frente a 6 de 9 (67%) que eran positivas con el T-SPOT-TB. Únicamente el 6% de los pacientes que habían tenido contacto

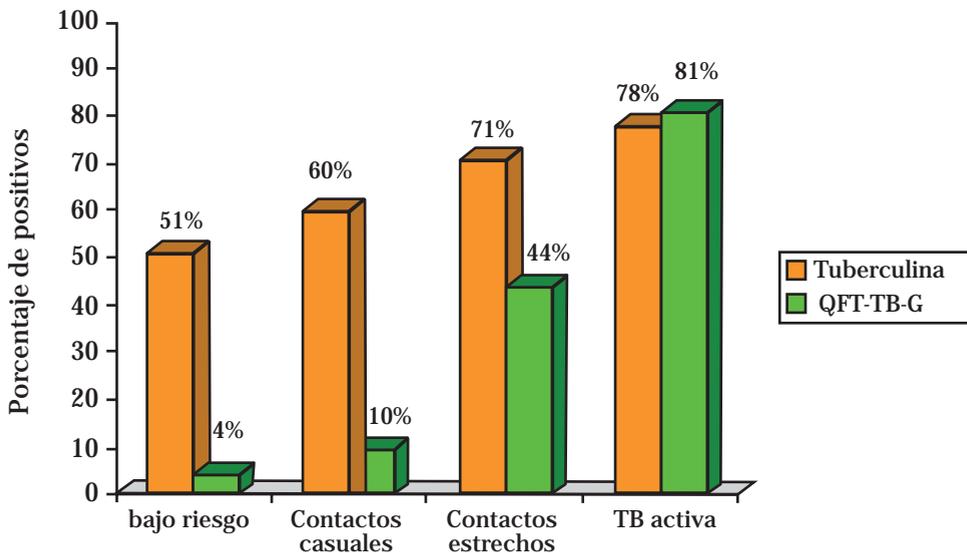


Figura 3. Concordancia entre la prueba de la tuberculina y QTF-TB-G en función del nivel de exposición.

directo con el caso índice, pero que no habían sido ingresados en la misma habitación, eran positivos a ambas pruebas. Por lo tanto, según este estudio, el odds ratio de presentar un T-SPOT-TB positivo en las ingresadas en la misma habitación era de 13,8 ($p=0,001$) con respecto a las ingresadas en habitaciones distintas. Este autor también observó que el odds ratio se incrementaba por 1,05% por cada hora que los contactos habían compartido con el caso índice. En contraposición, la PT no se correlacionaba significativamente con el ingreso en la misma habitación ni con el número de horas de exposición.

Zellweger realizó en Suiza un trabajo en el que valoró a un total de 92 personas que trabajaban en una residencia institucional y les realizó un T-SPOT-TB y una PT con la finalidad de ver cómo se correlacionaban ambos test con el grado de exposición¹⁵. Tal y como se puede apreciar en la figura 4, de nuevo a medida que se incrementaba la duración de la exposición aumenta significativamente el porcentaje de pacientes

con un T-SPOT-TB positivo; en cambio la PT no mostró esta asociación. De acuerdo con las guías de actuación suizas, el 44% de los pacientes hubieran tenido que recibir quimioprofilaxis secundaria por presentar una induración ≥ 10 mm. Incluso si se incrementa el punto de corte a ≥ 15 mm el porcentaje de quimioprofilaxis sería del 25% frente al 15% en el grupo del T-SPOT-TB positivo.

En nuestro país, se está realizando en Barcelona un estudio multicéntrico para evaluar las dos técnicas *in vitro* frente a la tuberculina con inclusión de 152 contactos, agrupados por el grado de exposición (superior o inferior a 6 horas)¹⁶. De nuevo, se aprecia cómo las técnicas *in vitro* se correlacionan mejor con la fuente infectante. De los individuos estudiados en los que se indicó tratamiento de la infección tuberculosa latente, un 31,6% presentó un resultado negativo en el T-SPOT-TB y un 44,4% en la prueba del quantiFERON-TB-G.

Por tanto, es probable que la mayor concordancia con el grado y duración de la exposición de estas nuevas técni-

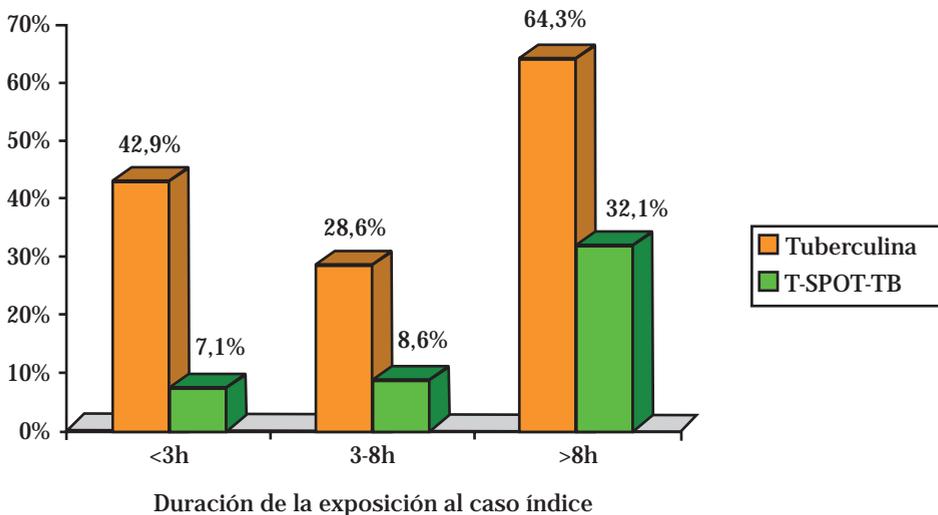


Figura 4. Comparación de la prueba de la tuberculina con T-SPOT-TB en función de la duración de la exposición. El T-SPOT-TB mostró una asociación significativa con la duración ($p < 0,01$) mientras que la tuberculina no ($p < 0,11$).

cas con respecto a la PT permita un diagnóstico de infección más preciso y evite pautas de quimioprofilaxis innecesarias.

Especificidad

La especificidad de estos test se puede estimar en individuos vacunados con la BCG sin factores de riesgo de desarrollar una infección tuberculosa, y asumiendo, que por ello, estos individuos no tienen una infección latente.

- a. *Especificidad del T-SPOT-TB*: la especificidad global se sitúa en torno al 92%. Tres estudios que incluyeron a un total de 98 individuos vacunados contra la tuberculosis, mostraron una especificidad promedio del 100%¹⁷⁻¹⁹. En un trabajo más reciente realizado en Corea del Sur, la especificidad del *T-Spot-TB* en 131 pacientes fue del 92%¹³.
- b. *Especificidad del quantiferonTB-Gold*: Menzies y col en un meta-análisis publicado en el año 2007, calculó después de analizar seis estudios una especificidad promedio del 96% en esta población¹⁰.

- c. *Especificidad de la tuberculina*: En tres estudios que evaluaron la especificidad de la prueba de la tuberculina en la población vacunada, cuando se considera positiva una induración ≥ 10 mm, ésta fue del 56%^{13,20,21}. Sin embargo, cuando en vacunados se incrementa el punto de corte a ≥ 15 mm para considerar la prueba positiva, de acuerdo con las recomendaciones SEPAR²², la especificidad se sitúa en el 80% (Fig. 5).

Los estudios analizados sugieren que, independientemente de la técnica *in vitro* que estemos considerando, la especificidad de los IGRA es superior a la de la tuberculina.

Varios trabajos han revelado que en un 10-40% de los pacientes existe una discordancia entre los resultados obtenidos con la prueba cutánea con respecto a los obtenidos con los test *in vitro*²³. En tres de ellos la discordancia fue mayor entre personas vacunadas que en las no vacunadas.

IGRA en pacientes inmunodeprimidos

Los pacientes con un deterioro de la inmunidad celular (p.ej. infección por VIH,

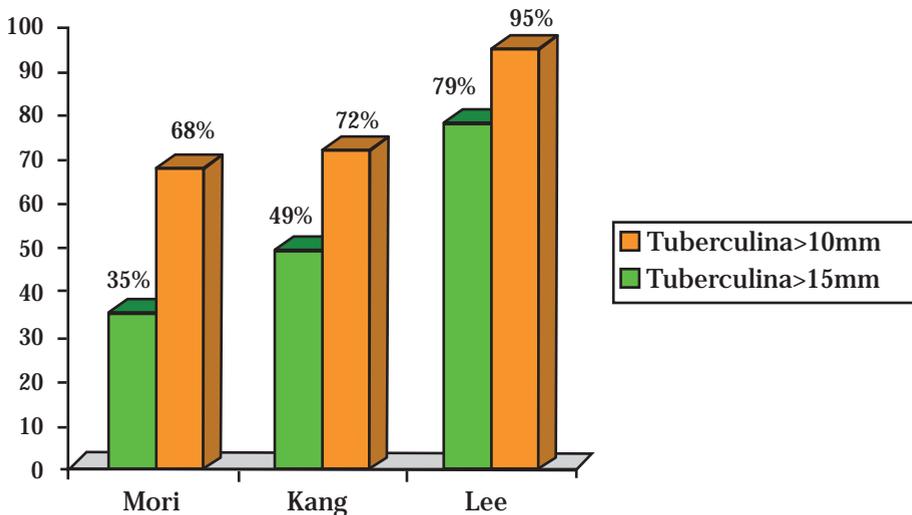


Figura 5. Especificidad de la prueba de la tuberculina en la población vacunada.

tratamiento inmunosupresor, incluido inhibidores del TNF- γ , etc...) tienen un riesgo elevado de desarrollar la enfermedad en caso de infectarse. Así, mientras en la población no inmunodeprimida el riesgo de padecer una TBC es, desde el momento que se produce la infección, del 10% a lo largo de toda la vida del individuo, en los pacientes VIH, el riesgo es del 10% anual²⁴. Por desgracia en este colectivo con un riesgo tan elevado de desarrollar una tuberculosis, la prueba de la tuberculina cuando es negativa, no es muy valorable. Esta situación puede traducir un verdadero negativo o un falso negativo como consecuencia de la anergia. Varias series publicadas recogen en este colectivo un porcentaje del 26 al 41% de falsos negativos y las estrategias utilizadas para intentar identificarlos, como la administración conjunta de la tuberculina con otros antígenos (p. ej. Cándida), se han abandonado por falta de estandarización y reproducibilidad. En esta situación, los IGRA pueden tener una importante utilidad, máxime teniendo en cuenta que tienen un control mitógeno positivo que nos ayuda a conocer si un resultado no positivo es un verdadero negativo o un indeterminado, que traduce errores técnicos o una marcada inmunosupresión.

Existen pocos estudios que han evaluado la utilidad de estos test en la población inmunodeprimida. Los datos disponibles sugieren que el T-SPOT-TB es más sensible que la prueba de la tuberculina y el QuantIFERON TB-G con un porcentaje menor de estudios indeterminados. Piana y col comparó, en 138 pacientes con neoplasias hematológicas que habían estado en contacto a nivel hospitalario con un bacilífero, la prueba de la tuberculina (considerado positiva una induración ≥ 5 mm) con el T-SPOT-TB²⁵. Globalmente, el 44% tenían un T-SPOT-TB positivo frente al 17,4% de positividad registrada con la prueba cutánea. Passalent, utilizando la misma metodología en 203 pacientes con insuficiencia renal que requerían diálisis, constató una positividad del 35% de T-SPOT-TB frente a 18,2% de la tuberculina²⁶. El porcentaje de estudios indeterminados fue del 5,1%.

En el único estudio que se ha comparado directamente T-Spot-TB con la prueba

de la tuberculina en pacientes VIH positivos, se consideró que la prueba cutánea era positiva cuando la induración tenía ≥ 10 mm, por lo que probablemente sea complicado sacar conclusiones con los resultados obtenidos²⁷. En un trabajo posterior realizado por Dheda y col con esta técnica, el porcentaje de estudios indeterminados era del 3%, y no se correlacionaba con el conteo de CD4²⁸. Recientemente se ha publicado un trabajo que ha comparado el QTF-TB-Gold in tube (quantiferon de 3ª generación) con la prueba de la tuberculina en 294 pacientes con VIH positivos²⁹. Se definió una prueba de la tuberculina positiva cuando la induración era ≥ 5 mm. El número global de resultados indeterminados era del 9,1%, siendo cuatro veces mayor cuando el número de CD4 era < 100 células/mm³ que cuando es > 100 células/mm³ (16,1% versus 3,6%). El 56% de los pacientes con una tuberculina positiva presentaron un QTF-G negativo y en el 58% de los que tuvieron un QTF-G positivo, la prueba cutánea fue negativa. Tal y como señala el autor, este estudio no resuelve la duda de si en pacientes VIH+ se debería hacer uno u otro test o los dos simultáneamente, aunque los resultados del trabajo abogan por esta última opción. Brooks y col en 590 VIH positivos obtuvo un 24% de estudios indeterminados en pacientes con menos de 100 CD4+ /mm³ frente al 2,8% observado en aquellos con más de 100 CD4+ /mm³.³⁰ Globalmente el número de estudios indeterminados fue del 3,4%.

Cuestiones sin resolver

Necesitamos, debido al carácter novel de la técnica, más estudios que nos permitan contestar algunas preguntas que todavía hoy no tienen respuesta. Desconocemos cuál es la variabilidad inter o intralaboratorio de la técnica. En la documentación técnica del QuantIFERON-TB Gold y T-SPOT-TB se especifica un coeficiente de variación del 8,7% y 2,1% respectivamente^{8,9}. Carecemos de estudios longitudinales específicamente diseñados para tal fin, que nos permitan conocer si los individuos con una tuberculina positiva y test de liberación de IFN- γ negativo tienen más riesgo de desarrollar una tuberculosis que los individuos que tienen los dos test

negativos. En este sentido, en un estudio de contactos realizado en Japón no se constató ningún caso de TB a lo largo de un periodo de seguimiento de casi 3,5 años entre los 91 estudiantes que eran TST + pero QuantiFERON-TB Gold negativo y no se les ofreció quimioprofilaxis^{2a}, a pesar de haber estado en contacto reciente con un paciente con TBC activa³¹. Otra cuestión todavía no aclarada es el significado de la conversión de un test IGRA positivo a negativo. En un trabajo realizado entre personal sanitario de la India, el 24% de los trabajadores que inicialmente tenían un QuantiFERON-TB Gold positivo se negativizó a los 18 meses³². Es posible que los IGRA sean muy sensibles en la detección de una infección reciente, pero a medida que ésta es controlada y el papel de las células T activadas ya no es tan importante, cediendo el protagonismo a las células T memoria, la respuesta se negativice. Se especula que el periodo de incubación habitual de 16-24 horas sería insuficiente para detectar la liberación de interferón- γ por estas células y se requeriría más tiempo³³.

Coste-efectividad

El coste de un kit de QFT-G, con el que se puede testar más de 40 individuos, es aproximadamente de 600 \$, muy superior a los 149,99 € que cuestan 10 viales de tuberculina RT-23 en Alemania, con el que se pueden testar 100 individuos. Sin embargo, en la actualidad, se disponen de estudios que avalan mejor coste-efectividad de los IGRA, con respecto a la prueba de la tuberculina en el estudio de contactos. Diel y col después de analizar todos los costes derivados de la administración de tuberculina, que incluían material, personal, radiografías, administración de quimioprofilaxis secundaria, inclusive los posibles falsos positivos de la tuberculina y seguimiento, estimó que el coste por contacto era de 91 €. Sin embargo, cuando se realiza QTF-G exclusivamente a los contactos con tuberculina positivos, el coste disminuía en un 43% y se situaba en los 52 €. Esta reducción se produce como consecuencia de una disminución en el número de radiografías, que en el protocolo de Alemania, se recomienda en la valoración inicial, a los

tres y nueve meses en todo contacto con prueba de la tuberculina positiva³⁴. En otro estudio realizado en Suiza se evaluaron los costes directos de tres métodos de screening en el diagnóstico de la infección tuberculosa latente. Se estudió a 267 pacientes, de los cuales 151 habían recibido la vacuna de la BCG. La estrategia más coste-efectiva en el estudio de contactos es la PT, seguida si es positiva (en Suiza se considera como tal una induración ≥ 10 mm) del T-SPOT-TB. Si disminuimos el tamaño de la induración a 5 mm para considerarla positiva, el gasto se incrementa en un 7%. Esta estrategia disminuye los costes en un 49% con respecto al screening único con la prueba cutánea a expensas de una disminución en el número de quimioprofilaxis³⁵.

El coste de los nuevos test difiere de forma considerable en función de cuál realicemos y el país donde se lleve a cabo. En Suiza el coste por test de T-SPOT-TB es de 129 €³⁴, en EEUU el coste por test de quantiFERON-TB (quantiferon de primera generación) es de 33,67\$³⁶ y el quantiFERON TB-Gold (quantiferon de segunda generación) en Korea se sitúa entre 20-30\$¹³.

Normativas internacionales sobre la utilización de los IGRA

En el momento actual existen tres guías: la de los *Center for Diseases Control* (CDC) de EEUU¹¹; la NICE del Reino Unido³⁷ y la Suiza que recomiendan incorporar los IGRA en el estudio de contactos.

Los CDC, en Mayo del 2005, aprobaron la utilización del QFT-TB-G como ayuda en el diagnóstico de la infección tuberculosa, incluyendo la tuberculosis activa y la infección tuberculosa latente. Según estas guías, el QFT-TB-G se puede usar en lugar de (y no además de) la PT en todas aquellas circunstancias en las que estaría indicada la realización de ésta, incluyendo la investigación de contactos, evaluación de inmigrantes vacunados con BCG y despistaje en personal sanitario en contacto con pacientes tuberculosos. En pacientes con un deterioro de la respuesta inmune, con un riesgo incrementado de desarrollar una TBC en caso de infección como son: paciente con VIH, personas que reciben

tratamiento con inmunosupresores incluyendo altas dosis de corticoides, antagonistas del TNF- γ , neoplasias hematológicas, neoplasias malignas específicas (carcinoma de pulmón, cuello o cabeza), diabetes, silicosis e insuficiencia renal crónica; un QFT-TB-G negativo, al igual que ocurre con la PT no permite descartar una infección.

Recomiendan que la actitud sanitaria que se debería tomar con un QFT-TB-G positiva sea la misma que si la PT fuera positiva, no existiendo ninguna razón para realizar una PT a un paciente con un QFT-TB-G positiva.

Se desconoce cómo efectuar el seguimiento de los pacientes con un QFT-TB-G indeterminado. Las opciones son: repetir la prueba, realizar una PT o no hacer nada. La actitud que recomiendan las guías varía en función del riesgo de enfermar el individuo. En pacientes de alto riesgo parece prudente repetir un segundo test o realizar una PT; en los de bajo riesgo no se necesitan hacer estudios adicionales.

La normativa británica para el uso de estos test es más restrictiva que la guía americana. Tiene en cuenta una estrategia diagnóstica basada en el coste-efectividad en el estudio de contactos y recomienda utilizar primero la PT; si es positiva o los resultados de ésta no son muy fiables se continuará el estudio con un IGRA si está disponible. Esta estrategia ha demostrado ser coste-efectiva con niveles intermedios de prevalencia de infección (10-40%). Por encima de 40%, la realización inicial de un IGRA es la opción más coste-efectiva.

CONCLUSIONES

La incorporación de los test que cuantifican el interferón- γ en sangre pueden mejorar la eficiencia en el estudio de contactos ya que, además de resolver las deficiencias operativas de la prueba de la tuberculina, han demostrado ser más específicos y capaces de discriminar una infección reciente lo que, sin duda alguna, redundará en una mejor selección de los infectados que deben recibir tratamiento, con la consiguiente disminución en el número de quimioprofilaxis inadecuadas. Debido a que no permite discriminar la infección tuberculo-

sa de la enfermedad y a su limitada sensibilidad, el resultado de estos test no permite ni confirmar ni descartar una TBC activa. Es posible, al menos en los países desarrollados, que en los próximos 5-10 años la centenaria prueba de la tuberculina sea tan sólo un recuerdo en la memoria de todos aquellos que, de una u otra forma, nos dedicamos a la tuberculosis.

BIBLIOGRAFÍA

1. VIDAL R. Tuberculosis y micobacteriosis. *Med Respir* 2006; 51: 899-923.
2. CAMINERO LUNA JA. Guía de la tuberculosis para médicos especialistas. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, editor. 1-390.2003 Paris, Imprimerie Chirat. Ref Type: Serial (Book, Monograph).
3. COLER RN, SKEIKY YA, OVENDALE PJ, VEDVICK TS, GERVASSI L, GUDERIAN J et al. Cloning of a mycobacterium tuberculosis gene encoding a purified protein derivative protein that elicits strong tuberculosis-specific delayed-type hypersensitivity. *J Infect Dis* 2000; 182: 224-233.
4. ATS. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1376-1395.
5. ATS. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: S221-S247.
6. CAMINERO JA, CASAL M, AUSINA V, PINA JM, SAURET J. Diagnóstico de tuberculosis. *Arch Bronconeumol* 1996; 32: 85-99.
7. DOMÍNGUEZ J, RUIZ-MANZANO J. Prueba de la tuberculina: ¿es la hora del cambio? *Arch Bronconeumol* 2006; 42: 47-48.
8. <http://www.vidrl.org.au/labsandunits/mrl/tbgold.pdf>. Último acceso 13-Abril-2007.
9. <http://www.oxfordimmunotec.com/downloads/Visual%20Procedure%20Guide%20VPG-TB-UK-V1%20231205.pdf>. Último acceso 13-Abril-2007.
10. 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: 340-354.
11. MAZUREK G, JEREB J, LOBUE P, IADERMARCO M, METCHOCK B, VERNON A. Guidelines for using the QuantiFERON[®]-TB-Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis*

- infection, United States. MMWR 2005/54 (RR15); 49-55.
12. BROCK I, WELDINGH K, LILLEBACK T, FOLLMANN E, ANDERSEN P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 65-69.
 13. KANG YOUNG A, LEE HYE WON, YOON HO II, CHO BE LONG, HAN SUNG KOO, SHIM YOUNG-SOO et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon assay for the diagnosis of latent tuberculosis infections in an indeterminate tuberculosis-burden country. JAMA 2005; 293: 2571-2761.
 14. RICHELDI L, EWER K, LOSI M, BERGAMINI B, ROVERSI P, DEEKS J et al. T cell-based tracking of multidrug resistant tuberculosis infections after brief exposure. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 288-295.
 15. ZELLWEGER J-P, ZELLWEGER A, ANSERMET S, SENARCLENS B, WRIGHTON-SMITH P. Contact tracing using a new T-cell-based test: better correlation with tuberculosis exposure than the tuberculin skin test. Int J Tuberc Lung Dis 2005; 9: 1242-1247.
 16. SOUZA GALVAO M. Utilidad de las técnicas basadas en la detección de IFN-gamma. Una herramienta en Salud Pública. Enf Emerg 2006; 8: 163-168.
 17. PATHAN AA, WILKINSON KA, KLENERMAN P, MCSHANE H, DAVIDSON RN, PASVOL G et al. Direct ex vivo analysis of antigen-specific IFN- γ secreting CD4 T sells in *Mycobacterium tuberculosis*-infected individuals: associations with clinical disease state and effect of treatment. J Immunol 2001; 167: 5217-5225.
 18. LALVANI A, PATHAN AA, MCSHANE H, WILKINSON RJ, LATIF M, CONLON CP et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infections by enumeration of antigen-specific T-cells. Am J Respir Crit Care Med 2001; 163: 824-828.
 19. LALVANI A, NAGVENKAR P, UDWADIA Z, PATHAN AA, WILKINSON KA, SHASTRI JS et al. Enumeration of T cells specific for RD1-encoded antigens suggest a high prevalence of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in health urban Indians. J Infect Dis 2001; 183: 469-477.
 20. LEE JY, CHOI HJ, PARK I-N, HONG S-B, OH Y-M, LIM C-M et al. Comparison of two commercial interferon assays for diagnosing *Mycobacterium tuberculosis* infection. Eur Respir J 2006; 28: 24-30.
 21. MORI T, MITSUNORI S, YAMAGISHI, F, TAKASHIMA T, KAWABE Y, NAGAO K. Specific detection of tuberculosis infection. An interferon- γ based assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 59-64.
 22. VIDAL R, CAYLÁ J, GALLARDO J, LOBO A, MARTIN C, ORDOBÁS M et al. Normativa sobre la prevención de la tuberculosis. Arch Bronconeumol. 2002; 38: 441-451.
 23. PAI M, RILEY LW, COLFORD JM. Interferon- γ assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Dis 2004; 4: 761-776.
 24. SELWYN PA, HARTEL D, LEWIS VA, SCHOENBAUM EE, VERMUND SH, KLEIN RS et al. A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. N England J Med 1989; 320: 545-550.
 25. PIANA F, CEDECASA LR, CAVALLERIO P, FERRARESE M, MIGLIORI GB, BARBARANO L et al. Use of a T-cell-based test for detection of tuberculosis infections among immunocompromised patients. Eur Respir J 2006; 28:31-34.
 26. PASSALENT L, KHAN K, RICHARDSON R, WANG J, DEIDER H, GARDAM M. Detecting latent tuberculosis infection in hemodialysis patients: a head-to-head comparación of the T-SPOT.TB test, tuberculin skin test, and expert physician panel. Clin J Am Soc Nephrol 2007; 2:68-73.
 27. CHAPMAN AL, MUNKATA M, WILKINSON KA, PATHAN AA, EWER K, AYLES H et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infections in HIV-positive individuals by enumeration of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T-cells. AIDS 2002; 16: 2285-2293.
 28. DHEDA K, LALVANI A, MILLER R, SCOTT G, BOOTH H, JOHNSON M 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.
 29. LUETKEMEYER A, CHARLEBOIS E, FLORES L, BANGSBERG D, DEEKS S, MARTIN J et al. Comparison of an interferon- γ release assays with tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175: 737-742.
 30. BROCK I, RUHWALD M, LUNDGREN B, WESTH H, MATHIESEN L, RAVN P. Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon- γ test. Respir Res 2006; 7: 56.
 31. HIGUCHI K, HARADA N, MORI T, SEKIYA Y. Use of QuantiFERON-TB Gold to investigate tuberculosis contacts in a high school. Respirology 2007; 12: 88-92.

32. PAI M, JOSHI R, DOGRA S, MENDIRATTA DK, NARANG P, KALANTRI S et al. Serial testing of health care workers for tuberculosis using interferon-gamma assay. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 349-355.
33. AREND S, THIJSEN S, LEYTEN E, BOUWMAN J, FRANJEN W, KOSTER B. Comparison of two interferon- γ assays and tuberculin skin test for tracing tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 618-627.
34. DIEL R, NIENHAUS A, LANGE C, SCHABERG T. Cost-optimization of screening for latent tuberculosis in close contacts. *Eur Respir J* 2006; 28: 35-44.
35. WRIGHTON-SMITH P, ZELLWEGER JP. Direct cost of three models for the screening of latent tuberculosis infection. *Eur Respir J* 2006; 28: 45-50.
36. DEWAN PK, GRINSDALE J, LISKA S, WONG E, FALLSTAD R, KAWAMURA L. Feasibility, acceptability, and cost of tuberculosis testing by whole-blood interferon-gamma assay. *BMC Infectious Diseases* 2006; 6: 47.
37. <http://guidance.nice.org.uk/CG33/guidance/pdf/English>

