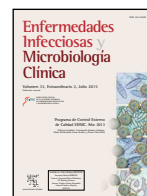




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Aplicación y utilidad actual de las técnicas de interferón- γ en el diagnóstico de la tuberculosis

José Domínguez^{a,*} e Irene Latorre^b

^aServicio de Microbiología, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, CIBER Enfermedades Respiratorias, Badalona, Barcelona, España

^bDepartamento de Microbiología Molecular, Hospital Universitari Sant Joan de Déu, Hospital de Barcelona, Barcelona, España

RESUMEN

Palabras clave:

IGRA
Quantiferón
T-SPOT.TB
Infección tuberculosa
Diagnóstico in vitro

La utilización de las técnicas de inmunodiagnóstico in vitro basadas en la liberación de interferón- γ tras la estimulación con antígenos específicos de *Mycobacterium tuberculosis* (IGRA) ha supuesto una mejora en la precisión del diagnóstico de la infección tuberculosa. Los IGRA tienen una reconocida mayor especificidad que la prueba de la tuberculina, y en pacientes inmunodeprimidos pueden presentar un mayor número de resultados positivos. Los IGRA presentan una mayor correlación con la exposición a *M. tuberculosis* que la prueba de la tuberculina; no obstante, sus valores predictivos positivo y negativo son similares. Sin embargo, dada su mayor especificidad permiten reducir el número de tratamientos preventivos innecesarios. Además, estas técnicas in vitro se ven menos afectadas que la prueba de la tuberculina por los diferentes estados de inmunodepresión. En esta revisión se discute la utilidad y aplicabilidad de los IGRA en diferentes grupos de pacientes: estudios de contactos, población pediátrica, inmunodeprimidos, trabajadores sanitarios y pacientes con tuberculosis activa. Además se incluyen nuevas perspectivas tecnológicas en el diagnóstico de la infección tuberculosa y de la tuberculosis activa.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Up-to-date applicability of interferon- γ release assays for the diagnosis of tuberculosis

ABSTRACT

Keywords:

IGRA
Quantiferon
T-SPOT.TB
Latent tuberculosis infection
In vitro diagnosis

Utility of the in-vitro immunodiagnostic methods, based on the detection of interferon- γ released by T-cells after specific *Mycobacterium tuberculosis* antigen stimulation (IGRA), has been an improvement in the accuracy of the latent tuberculosis infection diagnosis. IGRA have a well-known higher specificity than the tuberculin skin testing (TST). Moreover, they can obtain a larger number of positive results than the TST in immunocompromised patients. IGRA have shown a high correlation with *M. tuberculosis* exposure, but their positive and negative predictive value are similar than those obtained by TST. Nevertheless, given their high specificity, they allow reducing number of unnecessary preventive treatments. In addition, these in-vitro techniques are less affected than TST by the different immunosuppressing status. In this review is discussed up-to-date applicability of IGRA in different patient groups: contact studies, pediatric population, immunosuppressed patients, health care workers and active tuberculosis patients. Furthermore, it has been included possible future directions for latent tuberculosis infection and active tuberculosis diagnosis.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La tuberculosis (TB) continúa siendo un serio problema de salud pública. El control de la TB se basa fundamentalmente en el diagnós-

tico temprano de los pacientes y en su correcto tratamiento. Sin embargo, como es bien conocido, los métodos habituales presentan limitaciones: falta de sensibilidad del examen microscópico y falta de rapidez de los cultivos en el aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis*. Además, para un mejor control de la enfermedad es necesario también detectar a los pacientes infectados con *M. tuberculosis* y tratarlos adecuadamente, para, de esta manera, evitar que progresen a enfermedad activa y que propaguen la enfermedad.

*Autor para correspondencia.

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

Diagnóstico de la infección tuberculosa latente

El método clásico de diagnóstico de la infección tuberculosa ha sido la prueba de la tuberculina (PT), una técnica *in vivo* que estudia la sensibilización a antígenos de *M. tuberculosis*. El principal inconveniente de la PT es su falta de especificidad. La tuberculina contiene más de 200 antígenos que no son específicos de *M. tuberculosis* y que se comparten con *Mycobacterium bovis* bacilo de Calmette-Guérin (BCG) y micobacterias no tuberculosas (MNT). Esto provoca que sujetos vacunados con BCG y/o sensibilizados por MNT también respondan inmunológicamente al PPD (*purified protein derivative*), dando como resultado falsos positivos¹. Además, la PT puede presentar falsos negativos en pacientes inmunodeprimidos debido a una respuesta inmune debilitada en pacientes con alteraciones de la inmunidad celular².

Las células T CD4 productoras de interferón- γ (IFN- γ) son las mayores responsables del desarrollo de la inmunidad protectora frente a *M. tuberculosis*. En este sentido, los métodos *in vitro* de inmunodiagnóstico basados en la detección del IFN- γ liberado por las células T de la sangre periférica, tras estimulación con antígenos específicos de *M. tuberculosis*, se han mostrado como una alternativa útil a la PT en el diagnóstico de la infección tuberculosa. La clave de estas técnicas radica en la utilización de los antígenos específicos ESAT-6, CFP-10 y/o TB7.7 para la estimulación de las células, ya que son antígenos que están presentes en *M. tuberculosis* y ausentes en las cepas de BCG y en la mayoría de MNT^{3,4}. Actualmente hay 2 versiones comerciales de estas técnicas de diagnóstico *in vitro*, también llamadas IGRA (*interferon-gamma release assays*), aprobadas por la Food and Drug Administration y la Comisión Europea: QuantiFERON-TB Gold In-Tube (QFN-G-IT, QIAGEN, Düsseldorf, Germany) y T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, UK).

Se ha demostrado que los IGRA tienen una mayor especificidad que la PT. Además, en pacientes inmunodeprimidos pueden presentar un mayor número de resultados positivos. No obstante, la precisión de estas técnicas discrepa en función del tipo de inmunosupresión. Sin embargo, los IGRA pueden resultar ventajosos respecto a la PT en determinadas situaciones clínicas^{5,6}. Por otro lado, los IGRA pueden detectar ausencia de respuesta inmune, ya que presentan controles internos que permiten identificar falta de respuesta en pacientes anérgicos. Este tipo de resultados se consideran indeterminados e implican una falta de respuesta de las células T del paciente. En un paciente con un resultado de la PT negativo y un resultado indeterminado por las técnicas *in vitro* podría significar que nos encontramos frente a un falso negativo de la tuberculina.

IGRA y estudios de contactos

El estudio convencional de contactos se realiza sistemáticamente a los convivientes y a las personas que han estado en contacto con un enfermo de TB. Es una de las actividades sanitarias más eficaces desde el punto de vista del control de la TB, ya que permite la detección de todos los posibles nuevos casos de enfermos e infectados originados como consecuencia del contacto con el nuevo foco infeccioso; de esta forma se intenta romper la cadena de transmisión de la enfermedad. Los IGRA se han mostrado como una verdadera alternativa a la PT en los estudios de contactos, si consideramos fundamentalmente sujetos adultos inmunocompetentes, ya que son más específicos y se correlacionan mejor con la exposición a *M. tuberculosis* que la PT⁷⁻¹⁶. Esto es especialmente útil en países en los que la vacuna de la BCG se administra de forma sistemática. Estudios recientes han demostrado que los IGRA y la PT tienen un elevado valor predictivo negativo (VPN). Por lo tanto, en el caso de obtener un resultado negativo, la probabilidad de progresar a enfermedad sin tratamiento preventivo es prácticamente nula. El valor predictivo positivo (VPP) de ambas técnicas es modesto, ya que un porcentaje muy bajo de los sujetos con un resultado positivo pro-

gresan a enfermedad. Ambas técnicas presentan VPP similares, aunque parece que los IGRA son ligeramente superiores¹⁷⁻²¹. Además, dada su mayor especificidad se reduce el número de profilaxis innecesarias.

IGRA y población pediátrica

El diagnóstico de la infección tuberculosa latente en el niño es un reto. La inmadurez inmunológica de los niños más pequeños afecta a las técnicas de inmunodiagnóstico (PT e IGRA)^{22,23}. Un estudio colaborativo coordinado por el pTBnet (sección pediátrica del TBnet) ha observado que existe una correlación entre la edad de los niños y un resultado positivo por IGRA. Por lo tanto, el número de positivos se reduce en niños de temprana edad. Además, el porcentaje de resultados indeterminados también aumenta en niños menores de 5 años²⁴. Igual que en población adulta, el VPP de los IGRA y la PT en niños es bajo y similar entre ambas técnicas^{18,25,26}. No obstante se ha observado que una conversión del QFN-G-IT representa un elevado riesgo de progresar a enfermedad en adolescentes²⁷. También se ha descrito la utilidad de los IGRA en identificar resultados positivos de la PT como consecuencia de sensibilización por MNT^{12,28}.

IGRA e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana

Los sujetos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana tienen un mayor riesgo de progresión a enfermedad tuberculosa. La utilización conjunta de los IGRA y de la PT ha de permitir aumentar la detección del número de infecciones tuberculosas. Sin embargo, ambas técnicas se ven afectadas por el número de CD4 de los pacientes. A menor número de CD4, las técnicas presentan menos resultados positivos y un mayor porcentaje de indeterminados. De todas formas, los IGRA, en especial el T-SPOT.TB, parecen estar menos afectados por los CD4 que el QFN-G-IT y la PT^{21,29-33}.

IGRA y pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas

La utilización de terapias biológicas ha supuesto una importante mejoría terapéutica de los pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas (psoriasis, enfermedades reumáticas y enfermedades inflamatorias digestivas crónicas). Sin embargo, estas terapias, especialmente los agentes anti-factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), presentan un riesgo muy elevado de reactivación de la infección tuberculosa latente. Por lo tanto es necesario realizar un preciso cribado de la infección tuberculosa en los pacientes que han de iniciar tratamiento biológico^{34,35}.

Numerosos estudios han evaluado la utilidad de los IGRA en esta población, sugiriendo que las técnicas *in vitro* están menos afectadas por los tratamientos modificadores de la inmunidad que habitualmente toman estos pacientes. Sin embargo, estos estudios tienden a agrupar pacientes con diferentes enfermedades crónicas (psoriasis, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, etc.) y con diferentes grados de inmunosupresión^{36,37}, de manera que en pacientes con enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa se obtiene un número menor de resultados positivos y un número mayor de resultados indeterminados que en pacientes con psoriasis o artritis reumatoide³⁸. Estos resultados son atribuibles a los diferentes tratamientos inmunosupresores que ya reciben los pacientes antes de iniciar los tratamientos anti-TNF α . Además hay estudios que indican que determinados tratamientos, como los corticosteroides, inducen un elevado número de resultados indeterminados en los IGRA³⁹⁻⁴². A pesar de que en determinados pacientes, como los pacientes con psoriasis o artritis reumatoide, el VPN de los IGRA parece muy elevado, de momento es todavía prudente recomendar el uso combinado de PT e IGRA para el cribado de la infección en este grupo de pacientes inmunodeprimidos³⁷.

IGRA y trabajadores sanitarios

Los trabajadores sanitarios con mayor grado de exposición a pacientes con enfermedad tuberculosa son uno de los grupos de mayor riesgo de infección por *M. tuberculosis*. Por lo tanto, el cribado periódico de infección tuberculosa en este sector es importante en los protocolos del control de la infección. En nuestro medio se ha recomendado en el cribado inicial la utilización de la PT y la confirmación de los positivos mediante IGRA, especialmente en sujetos vacunados⁴³. Respecto al cribado periódico, la utilización de la PT, además de los inconvenientes previamente citados, presenta el problema de provocar falsos positivos por efecto *booster* al realizar repetidas PT. Los IGRA, al realizarse *in vitro*, no presentan este inconveniente, de manera que, una vez se obtenga una PT positiva e IGRA negativo, debería continuar realizándose el cribado periódico con IGRA. Sin embargo se han descrito reversiones y conversiones en los resultados de los IGRA al realizarlos de forma seriada. Estos resultados se pueden minimizar cuando se establecen puntos de corte más elevados que los establecidos por los fabricantes, ya que la mayoría de reversiones corresponden a valores alrededor del umbral de positividad⁴⁴⁻⁴⁶.

IGRA y coste-efectividad

Se han publicado diferentes estudios de coste-efectividad sobre la utilización de los IGRA en el diagnóstico de la infección tuberculosa comparando IGRA con PT y el uso combinado de ambas técnicas. En general, los resultados son proclives a que el uso de los IGRA es coste-efectivo en comparación con el uso de la PT. Cuando se consideran todos los costes asociados al diagnóstico de la infección, como pueden ser las visitas, los tratamientos (innecesarios), las analíticas de control y la radiología, el coste mayor de los IGRA se ve compensado. Sin embargo, estos resultados de coste-efectividad están especialmente condicionados por la población en la que se realizan, de manera que si hay un mayor porcentaje de población vacunada con BCG habrá un mayor número de falsos positivos (con los consecuentes costes asociados) y la estrategia de utilización de los IGRA de forma única o en combinación con la PT se ve favorecida. Por lo tanto, estos costes deben adaptarse a las diferentes poblaciones^{47,48}.

IGRA en tuberculosis activa

A pesar de que los IGRA se han evaluado en numerosas ocasiones utilizando grupos de pacientes con TB activa (como indicador subrogado de infección tuberculosa), es necesario hacer hincapié en que los IGRA no permiten diagnosticar la enfermedad tuberculosa^{49,50}. Se ha descrito que los IGRA presentan resultados cuantitativamente mayores en pacientes con TB activa respecto a infectados; sin embargo existe un solapamiento muy importante que impide establecer un punto de corte que permita diferenciar enfermedad de infección^{51,52}. Por lo tanto podrían utilizarse como una técnica complementaria, como lo es la PT. También se ha especulado sobre la posibilidad de utilizar los valores cuantitativos de los IGRA para la monitorización del tratamiento antituberculoso. No obstante, numerosas publicaciones han evidenciado que existe mucha variabilidad en la producción de IFN- γ y que no hay asociación con la respuesta al tratamiento⁵³.

Se ha descrito la utilidad de los IGRA para el diagnóstico de la enfermedad tuberculosa detectando las células T sensibilizadas en muestras del foco de infección como puede ser líquido cefalorraquídeo, líquido pleural o lavado broncoalveolar. Esta estrategia podría resultar una buena alternativa en el diagnóstico de la TB pulmonar en pacientes con baciloscopia negativa y también en pacientes con TB extrapulmonar⁵⁴⁻⁵⁶.

Perspectivas futuras

La irrupción de los IGRA ha significado un punto de inflexión importante en el diagnóstico de la infección tuberculosa y su utilización se ha popularizado cada vez más. Ha permitido mejorar la precisión en el diagnóstico mejorando la especificidad y, en algunos casos, aumentando el número de positivos en población inmunodeprimida. Sin embargo, su VPP no es muy elevado y es similar al de la PT⁵⁷. Es decir, que la mayoría de los sujetos con un IGRA positivo no progresarán hacia enfermedad tuberculosa. Tampoco permite diferenciar entre infección remota e infección reciente, que es la que presenta un mayor riesgo de progresar hacia enfermedad tuberculosa, y tal y como se ha indicado anteriormente tampoco permite diferenciar entre enfermedad e infección.

Como consecuencia de ello se están explorando y desarrollando nuevas aproximaciones para el diagnóstico de la infección tuberculosa. Una de las aproximaciones gira en torno a nuevas versiones de IGRA, que mantienen el formato pero sustituyen las citocinas que se detectan o bien los antígenos con los que se estimulan las células T. Por lo que respecta a la detección de nuevas citocinas, hay varios biomarcadores candidatos: MIG (*monokine induced by IFN- γ*), IP-10 (*IFN- γ inducible protein 10*), MCP (*monocyte chemo-attractant protein*) e IL-2 (*interleukine 2*), entre otras. Todas ellas asociadas a la actividad Th1 y a la señalización de IFN- γ . Sin embargo, aunque algunas se producen en grandes concentraciones, mayores que el IFN- γ , de momento, por diferentes motivos, ninguna de ellas (excepto la IP-10) se ha seleccionado como una alternativa real. La IP-10, en cambio, se ha mostrado como una alternativa a la utilización del IFN- γ , ya que se han observado resultados equiparables en diferentes grupos de estudio^{58,59}. Además se ha demostrado que esta citocina es muy estable y se puede detectar a partir de sangre seca en papel de filtro. Este método es sencillo y permite la centralización del diagnóstico de la infección tuberculosa mediante IGRA⁶⁰.

También se está explorando la utilización de otros antígenos. Uno de los motivos por los que se seleccionó ESAT-6 en el diseño de los IGRA, además de su codificación en RD1 (específica de *M. tuberculosis*), fue que se trataba de una proteína que desencadenaba una intensa respuesta inmunológica. Sin embargo, no permite diferenciar entre infección y enfermedad, ya que ambos grupos de pacientes responden al estímulo de este antígeno. Por este motivo se están estudiando nuevos antígenos que se expresan exclusivamente en latencia, como son los *dosR-regulon encoded proteins* y los *IVE-TB antigens*. Se han obtenido resultados prometedores para algunos de estos antígenos⁶¹⁻⁶³. Además, recientemente se ha descrito que algunos de estos antígenos podrían ser útiles para la monitorización del tratamiento profiláctico con isoniazida⁶⁴.

Otras aproximaciones tecnológicas se basan en la detección de la expresión del ARNm de determinadas citocinas tras la estimulación antigénica de las células T⁶⁵, o técnicas basadas en citometría de flujo que permiten caracterizar diferentes subtipos celulares o identificar la polifuncionalidad de las células T productoras de IFN- γ , IL-2 y/o TNF α . Por ejemplo, se ha identificado que durante la TB activa la proporción de células que solo secretan TNF α es mayor que durante la infección tuberculosa⁶⁶. Además, recientemente se ha desarrollado una nueva estrategia también basada en citometría de flujo (TAM-TB) que aumenta la sensibilidad del diagnóstico de la TB activa en niños. Esta técnica se basa en la detección del marcador fenotípico CD27 en células CD4 productoras de IFN- γ tras la respuesta a los antígenos específicos de *M. tuberculosis*⁶⁷.

Conclusiones

Los IGRA son técnicas que han mejorado el diagnóstico de la infección tuberculosa. A pesar de presentar un VPP y un VPN similares a los de la PT, su mayor especificidad ha permitido reducir el número de profilaxis innecesarias y, además, ha aumentado el número de

resultados positivos en comparación con la PT en pacientes inmuno-deprimidos. El uso de los IGRA para cada grupo de pacientes debe ser guiado por el criterio clínico y las normativas basadas en la evidencia.

Financiación

Proyectos relacionados con la temática de este trabajo han sido financiados por la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR), la Fundació Catalana de Pneumologia (FUCAP) y el Fondo de Investigación Sanitaria (PI10/0214 y PI13/1546).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Huebner RE, Schein MF, Bass JB Jr. The tuberculin skin test. Clin Infect Dis. 1993;17:968-75.
- Selwyn PA, Sckell BM, Alcades P, Friedland GH, Klein RS, Schoenbaum EE. High risk of active tuberculosis in HIV-infected drug users with cutaneous anergy. JAMA. 1992;268:504-9.
- Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. Lancet. 2000;356:1099-104.
- Brock I, Weldingh K, Leyten EM, Arend SM, Ravn P, Andersen P. Specific T-cell epitopes for immunoassay-based diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection. J Clin Microbiol. 2004;42:2379-87.
- Redelman-Sidi G, Sepkowitz KA. IFN-gamma release assays in the diagnosis of latent tuberculosis infection among immunocompromised adults. Am J Respir Crit Care Med. 2013;188:422-31.
- Sester M, Van Leth F, Bruchfeld J, Bumbacea D, Cirillo DM, Dilektasli AG, et al. Risk assessment of tuberculosis in immunocompromised patients. A TBNET Study. Am J Respir Crit Care Med. 2014;190:1168-76.
- 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.
- 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.
- Domínguez J, Ruiz-Manzano J, De Souza-Galvão M, Latorre I, Mila C, Blanco S, et al. Comparison of two commercially available gamma interferon blood tests for immunodiagnosis of tuberculosis. Clin Vaccine Immunol. 2008;15:168-71.
- Diel R, Goletti D, Ferrara G, Bothamley G, Cirillo D, Kampmann B, et al. Interferon- γ release assays for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: a systematic review and meta-analysis. Eur Respir J. 2011;37:88-99.
- Lalvani A, Pathan AA, Durkan H, Wilkinson KA, Whelan A, Deeks JJ, et al. Enhanced contact tracing and spatial tracking of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. Lancet. 2001;357:2017-21.
- Altet-Gómez N, De Souza-Galvão M, Latorre I, Mila C, Jiménez MA, Solsona J, et al. Diagnosing TB infection in children: analysis of discordances using in vitro tests and the tuberculin skin test. Eur Respir J. 2011;37:1166-74.
- Richeldi L, Ewer K, Losi M, Bergamini BM, Roversi P, Deeks J, et al. T cell-based tracking of multidrug resistant tuberculosis infection after brief exposure. Am J Respir Crit Care Med. 2004;170:288-95.
- Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, Gottschalk R, Nienhaus A. Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold In Tube assay, and T-Spot.TB test in contact investigations for tuberculosis. Chest. 2009;135:1010-8.
- Kang YA, Lee HW, Yoon HI, Cho B, Han SK, Shim YS, et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. JAMA. 2005;293:2756-61.
- De Souza-Galvão ML, Latorre I, Altet-Gómez N, Jiménez-Fuentes MA, Mila C, Solsona J, et al. Correlation between tuberculin skin test and IGRA with risk factors for the spread of infection in close contacts with sputum smear positive in pulmonary tuberculosis. BMC Infect Dis. 2014;14:258.
- 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 tuberculosis disease after recent infection with *Mycobacterium tuberculosis*. Am J Respir Crit Care Med. 2008;177:1164-70.
- Rangaka MX, Wilkinson KA, Glynn JR, Ling D, Menzies D, Mwansa-Kambafwe J, et al. Predictive value of interferon- γ release assays for incident active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis. 2012;12:45-55.
- Aichelburg MC, Rieger A, Breitenacker F, Pfistershammer K, Tittes J, Eltz S, et al. Detection and prediction of active tuberculosis disease by a whole-blood interferon-gamma release assay in HIV-1-infected individuals. Clin Infect Dis. 2009;48:954-62.
- Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A. Predictive value of interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for progression from latent TB infection to disease state: a meta-analysis. Chest. 2012;142:63-75.
- Santin M, Muñoz L, Rigau D. Interferon- γ release assays for the diagnosis of tuberculosis and tuberculosis infection in HIV-infected adults: a systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2012;7:e32482.
- Sollai S, Galli L, De Martino M, Chiappini E. Systematic review and meta-analysis on the utility of Interferon- γ release assays for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: a 2013 update. BMC Infect Dis. 2014;14 Suppl 1:S6.
- Starke JR. Interferon- γ release assays for diagnosis of tuberculosis infection and disease in children. Pediatrics. 2014;134:e1763-73.
- Basu Roy R, Sotgiu G, Altet-Gómez N, Tsolia M, Ruga E, Velizarova S, et al. Identifying predictors of interferon- γ release assay results in pediatric latent tuberculosis: a protective role of bacillus Calmette-Guérin? a pTB-NET collaborative study. Am J Respir Crit Care Med. 2012;186:378-84.
- Bakir M, Millington KA, Soysal A, Deeks JJ, Efe 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.
- Mahomed H, Hawkridge T, Verver S, Abrahams D, Geiter L, Hatherill M, et al. The tuberculin skin test versus QuantiFERON TB Gold(R) in predicting tuberculosis disease in an adolescent cohort study in South Africa. PLoS One. 2011;6:e17984.
- Machingaidze S, Verver S, Mulenga H, Abrahams DA, Hatherill M, Hanekom W, et al. Predictive value of recent QuantiFERON conversion for tuberculosis disease in adolescents. Am J Respir Crit Care Med. 2012;186:1051-6.
- Latorre I, De Souza-Galvão M, Ruiz-Manzano J, Lacomma 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.
- 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;35:419-26.
- Latorre I, Martínez-Lacasa X, Font R, Lacomma 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.
- Domínguez J, Latorre I, Altet N, Mateo L, De Souza-Galvão 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.
- Cattamanchi A, Smith R, Steingart KR, Metcalfe JZ, Date A, Coleman C, et al. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection in HIV-infected individuals: a systematic review and meta-analysis. J Acquir Immune Defic Syndr. 2011;56:230-8.
- Chen J, Zhang R, Wang J, Liu L, Zheng Y, Shen Y, et al. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of active tuberculosis in HIV-infected patients: a systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2011;6:e26827.
- 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.
- 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.
- Smith R, Cattamanchi A, Steingart KR, Denlinger C, Dheda K, Winthrop KL, et al. Interferon- γ release assays for diagnosis of latent tuberculosis infection: evidence in immune-mediated inflammatory disorders. Curr Opin Rheumatol. 2011;23:377-84.
- Domínguez J, Vilavella M, Latorre I. Interferon γ assays in the diagnosis of tuberculosis infection in psoriasis patients who are candidates for biologic therapies. Actas Dermosifiliogr. 2012;103:880-6.
- Latorre I, Mínguez S, Vilavella M, Díaz J, Carrascosa J, 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.
- Hsia EC, Schluger N, Cush JJ, Chaisson RE, Matteson EL, Xu S, et al. Interferon- γ release assay versus tuberculin skin test prior to treatment with golimumab, a human anti-tumor necrosis factor antibody, in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis. Arthritis Rheum. 2012;64:2068-77.
- 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.
- Helwig U, Muller M, Hedderich J, Schreiber S. Corticosteroids and immunosuppressive therapy influence the result of QuantiFERON TB Gold testing in inflammatory bowel disease patients. J Crohns Colitis. 2012;6:419-24.
- 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;17:2340-9.
- Guia per a la prevenció i control de la tuberculosi en personal sanitari. Generalitat de Catalunya, Institut Català de Salut, Àrea de prevenció de riscos laborals; 2012.
- Fong KS, Tomford JW, Teixeira L, Fraser TG, Van Duin D, Yen-Lieberman B, et al. Challenges of interferon- γ release assay conversions in serial testing of health-care workers in a TB control program. Chest. 2012;142:55-62.
- Joshi M, Monson TP, Joshi A, Woods GL. IFN- γ release assay conversions and reversions. Challenges with serial testing in U.S. health care workers. Ann Am Thorac Soc. 2014;11:296-302.
- Dorman SE, Belknap R, Graviss EA, Reves R, Schluger N, Weinfurter P, et al. Interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for diagnosis of latent tuberculosis infection in healthcare workers in the United States. Am J Respir Crit Care Med. 2014;189:77-87.
- Nienhaus A, Schablon A, Costa JT, Diel R. Systematic review of cost and cost-effectiveness of different TB-screening strategies. BMC Health Serv Res. 2011;11:247.

48. Oxlade O, Pinto M, Trajman A, Menzies D. How methodologic differences affect results of economic analyses: a systematic review of interferon gamma release assays for the diagnosis of LTBI. *PLoS One*. 2013;8:e56044.
49. Sester M, Sotgiu G, Lange C, Giehl C, Girardi E, Migliori GB, et al. Interferon- γ release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2011;37:100-11.
50. Pai M, Denkinger CM, Kik SV, Rangaka MX, Zwerling A, Oxlade O, et al. Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27:3-20.
51. Janssens JP, Roux-Lombard P, Perneger T, Metzger M, Vivien R, Rochat T. Quantitative scoring of an interferon-gamma assay for differentiating active from latent tuberculosis. *Eur Respir J*. 2007;30:722-8.
52. Latorre I, De Souza-Galvao M, Ruiz-Manzano J, Lacombe A, Prat C, Fuenzalida L, et al. Quantitative evaluation of T-cell response after specific antigen stimulation in active and latent tuberculosis infection in adults and children. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009;65:236-46.
53. Chiappini E, Fossi F, Bonsignori F, Sollai S, Galli L, De Martino M. Utility of interferon- γ release assay results to monitor anti-tubercular treatment in adults and children. *Clin Ther*. 2012;34:1041-8.
54. Patel VB, Singh R, Connolly C, Coovadia Y, Peer AK, Parag P, et al. Cerebrospinal T-cell responses aid in the diagnosis of tuberculous meningitis in a human immunodeficiency virus- and tuberculosis-endemic population. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182:569-77.
55. Jafari C, Thijsen S, Sotgiu G, Goletti D, Domínguez Benítez JA, Losi M, et al. Bronchoalveolar lavage enzyme-linked immunospot for a rapid diagnosis of tuberculosis: a Tuberculosis Network European Trialsgroup study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180:666-73.
56. Losi M, Bossink A, Codecasa L, Jafari C, Ernst M, Thijsen S, et al. Use of a T-cell interferon-gamma release assay for the diagnosis of tuberculous pleurisy. *Eur Respir J*. 2007;30:1173-9.
57. Altet N, Domínguez J, De Souza-Galvão M, Jiménez MA, Milá C, Solsona J, et al. Predicting the development of tuberculosis with tuberculin skin test and QuantiFERON testing. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12:680-8.
58. Ruhwald M, Aabye MG, Ravn P. IP-10 release assays in the diagnosis of tuberculosis infection: current status and future directions. *Expert Rev Mol Diagn*. 2012;12:175-87.
59. Chegou NN, Heyckendorf J, Walzl G, Lange C, Ruhwald M. Beyond the IFN-gamma horizon: biomarkers for immunodiagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur Respir J*. 2014;43:1472-86.
60. Aabye MG, Latorre I, Díaz J, Maldonado J, Mialdea I, Eugen-Olsen J, et al. Dried plasma spots in the diagnosis of tuberculosis: IP-10 release assay on filter paper. *Eur Respir J*. 2013;42:495-503.
61. Chegou NN, Black GF, Loxton AG, Stanley K, Essone PN, Klein MR, et al. Potential of novel *Mycobacterium tuberculosis* infection phase-dependent antigens in the diagnosis of TB disease in a high burden setting. *BMC Infect Dis*. 2012;12:10.
62. Kabeer BS, Raja A, Raman B, Thangaraj S, Lepointier M, Ippolito G, et al. IP-10 response to RD1 antigens might be a useful biomarker for monitoring tuberculosis therapy. *BMC Infect Dis*. 2011;11:135.
63. Singh S, Saraav I, Sharma S. Immunogenic potential of latency associated antigens against *Mycobacterium tuberculosis*. *Vaccine*. 2014;32:712-6.
64. Torres M, García-García L, Cruz-Hervert P, Guio H, Carranza C, Ferreyra-Reyes L, et al. Effect of isoniazid on antigen-specific interferon- γ secretion in latent tuberculosis. *Eur Respir J*. 2015;45:473-82.
65. Blauenfeldt T, Heyckendorf J, Graff Jensen S, Lange C, Drabe C, Hermansen TS, et al. Development of a one-step probe based molecular assay for rapid immunodiagnosis of infection with *M. tuberculosis* using dried blood spots. *PLoS One*. 2014;9:e105628.
66. Harari A, Rozot V, Enders FB, Perreau M, Stalder JM, Nicod LP, et al. Dominant TNF α + *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD4+ T cell responses discriminate between latent infection and active disease. *Nat Med*. 2011;17:372-6.
67. Portevin D, Moukambi F, Clowes P, Bauer A, Chachage M, Ntinginya NE, et al. Assessment of the novel T-cell activation marker-tuberculosis assay for diagnosis of active tuberculosis in children: a prospective proof-of-concept study. *Lancet Infect Dis*. 2014;14:931-8.