

Tuberculina y QuantiFERON®-TB: concordancia, correlación cuantitativa y riesgo de exposición en estudio de contactos de tuberculosis

Juan B. Bellido-Blasco^{1,2,4}, Francisco Pardo-Serrano³, M^a Angels Romeu-García¹, Maria Rosario Moreno-Muñoz³, Noemí Meseguer-Ferrer¹, Ana Vizcaíno-Batlés¹, Maria Gil-Fortuño³, Esther Silvestre-Silvestre¹, Iraya Vivas-Fornas¹, Lourdes Safont-Adsua¹, Alberto Arnedo-Pena^{1,2}

¹Sección de Epidemiología. Centro de Salud Pública de Castellón. Conselleria de Sanitat. Generalitat Valenciana. ²CIBER-ESP, grupo 41. ³Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Castellón. ⁴Profesor asociado. Departamento de Medicina. Universitat Jaume I.

Resumen

La incidencia de tuberculosis en España continúa suponiendo un problema serio de salud pública. El estudio de contactos (EC) forma parte de las actividades de su prevención y control. El diagnóstico de la infección tuberculosa latente (ITBL) es un elemento clave del EC. En este estudio se presentan los resultados del diagnóstico de ITBL obtenidos con la prueba de la tuberculina (PT) y el QuantiFERON (QFT) en una unidad de epidemiología local con el fin de analizar su concordancia, su correlación cuantitativa y su asociación con el nivel de exposición de los contactos. A 583 contactos se les realizaron ambas pruebas en paralelo. El índice de Kappa estuvo entre 0.29 en contactos vacunados con BCG >35 años, y 0,68 en jóvenes no vacunados. El índice Kappa estandarizado, PABAK, fue de 0,23 y 0,83, respectivamente. Se observó correlación entre los valores de la PT en mm y los niveles de interferón del QFT (coeficiente de Spearman 0,61). La conversión fue mejor indicador de riesgo que la ITBL prevalente. Ambas pruebas, PT y QFT, presentan los rasgos de pruebas cuantitativas de diagnóstico y cribado, con lo que ello significa en la interpretación de resultados, tanto de ITBL prevalente como incidente o conversión.

Palabras clave:

Tuberculosis.
Estudio de contactos.
Infección tuberculosa latente.
Tuberculina. QuantiFERON-TB.

Tuberculin and QuantiFERON® -TB: concordance, quantitative correlation and risk of exposure in tuberculosis contacts tracing study

Summary

The incidence of tuberculosis in Spain continues to pose a serious health problem. The contact study (CE) is part of the prevention and control activities. The diagnosis of latent tuberculosis infection (LTBI) is a key element of CE. This study presents the LTBI results obtained with the tuberculin skin test (TST) and QuantiFERON (QFT) in a local epidemiology unit in order to analyze their concordance, their quantitative correlation and their association with the level of exposure of the contacts. 583 contacts were included with both tests in parallel. The Kappa index was between 0.29 in contacts >35 years old BCG vaccinated, and 0.68 in unvaccinated young people. The standard Kappa index, PABAK, was 0.23 and 0.83, respectively. A quantitative correlation was observed between TST values in mm and QFT interferon levels in UI/mL (spearman coefficient 0.61). The conversion was a better indicator of risk than the prevalent LTBI. Both, TST and QFT, present the traits of quantitative diagnosis and screening tests, which has implications for the interpretation of results, both of prevalent and incident ITBL.

Key words:

Tuberculosis.
Contacts tracing study.
Latent Tuberculosis infection.
Tuberculin Skin Test.
QuantiFERON-TB.

Introducción

A pesar de que en España se viene observando un ligero descenso en las tasas de tuberculosis (TB), esta enfermedad supone todavía un problema de salud relevante desde el punto de vista de salud pública. Según el último informe anual epidemiológico, publicado por el Ministerio de Sanidad con datos definitivos, durante 2014 se notificaron 5.020 casos de TB en España, de los que 3.927 fueron de tuberculosis respiratoria, con tasas de incidencia anual de 10,8 y 8,4 por 10⁵ habitantes, respectivamente¹. El estudio de contactos (EC) de estos pacientes forma parte de las actuaciones de control y prevención de la TB. La prueba cutánea de la tuberculina (PT) es la más conocida, cuyo uso acumula ya más de un siglo de experiencia². Pero ya hace algunos años que las pruebas de inmunodiagnóstico, basadas en la detección de interferón gamma y conocidas como pruebas IGRAs por sus siglas en inglés (*Interferon Gamma Release Assays*), se han incorporado paulatinamente en los documentos de consenso³, guías^{4,5} y en la práctica clínica⁶⁻⁹ y epidemiológica¹⁰ en mayor o menor grado, al extremo de que en las últimas recomendaciones de la *American Thoracic Society* se les confiere cierta preferencia frente a la PT¹¹. Recientemente José Domínguez ha resumido de manera muy clara y breve la evolución de estas técnicas *in vitro*¹².

A finales del año 2010, en la Unidad de Epidemiología del Centro de Salud Pública de Castellón (CSPCS), junto con el Laboratorio de microbiología del Hospital General Universitario de Castellón (HGUCS), incorporamos, además de la PT, un test IGRA, el QuantiFERON®-TB Gold in-Tube (QFT-GIT o simplemente QFT) para el diagnóstico de la infección tuberculosa latente (ITBL) en los estudios de contactos de enfermos TB. Desde entonces, más de 600 contactos TB han sido estudiados mediante ambas pruebas de forma paralela. En este artículo se presentan y analizan tres aspectos complementarios de estas pruebas: (a) la concordancia y sesgo de prevalencia entre ambas, consideradas como test cualitativos; (b) la correlación cuantitativa entre ellas, y (c) la asociación que puedan tener con el nivel de exposición que se asigna a los contactos de enfermos TB respiratoria, bien sea la ITBL "prevalente" o la ITBL "incidente" (conversión).

Material y métodos

Diseño

En primer lugar, se ha llevado a cabo un estudio transversal con los resultados del primer cribado; por tanto, se trata de datos de prevalencia de la ITBL en el momento de comenzar el estudio de contactos. Este estudio sirvió para los objetivos "a", "b" y "c-prevalencia". En segundo lugar, se ha llevado a cabo un estudio

de seguimiento o cohorte sobre los contactos negativos a QFT1; por tanto, disponemos de datos de incidencia de la infección (conversión) en el corto periodo entre el primero y el segundo cribado. Este diseño fue usado para el objetivo "c" de incidencia.

Población y periodo

La población del estudio la constituye el grupo de contactos examinados dentro de las actividades de vigilancia y control de la tuberculosis llevadas a cabo directamente por la Sección de Epidemiología del CSPCS, durante el periodo comprendido entre diciembre de 2010 y marzo de 2014 (40 meses), en los Departamentos de Salud 2 y 3 de la provincia de Castellón, con una población de unos 480.000 habitantes. No se incluyeron a los contactos examinados por los servicios de Medicina Preventiva o las unidades de infecciosos de los hospitales del área, que suelen examinar a los familiares de los casos hospitalizados y a los contactos VIH positivos, respectivamente. Se excluyeron los indeterminados según el QFT (dos).

Estudio de contactos

En el estudio de contactos de pacientes con TB se realiza un primer cribado (PT1 y QFT1) y a las 10-12 semanas un segundo cribado a los que fueron negativos en el primero (PT2 e QFT2). A los vacunados negativos a la PT1 se les realizó una nueva PT a los 7- 10 días (booster) para dar el resultado definitivo de PT1.

Variables y medición

Las variables principales han sido la PT, el test QFT y el nivel de exposición de los contactos. La PT fue realizada siempre por el personal de enfermería de la Sección de Epidemiología del CSPCS, inyectando en la dermis del antebrazo 1 mL de tuberculina con 2 U de PPD RT 23, la lectura la efectuó el personal facultativo de la misma Sección a las 72 horas, siguiendo la técnica de Mantoux, y consignando el diámetro transversal de la induración en milímetros. Se consideró "reactor" cuando la induración fue \geq 5mm. El test IGRA usado fue el QuantiFERON-TB Gold in tube® (QFT®-GIT, Cellestis GmbH, Europa, procesado QFT-ELISA con Dynex DSX™ y software QFT de Cellestis). Las muestras de sangre fueron tomadas por personal adiestrado de la Sección de Epidemiología y transportadas a lo largo de la mañana al Laboratorio de Microbiología del HGUCS, donde fueron procesadas siguiendo las instrucciones del fabricante. Se consideró positivo cuando al resultado fue \geq 0,35 UI/mL. Se dispone de la cuantificación de cada uno de los tres tubos que son utilizados para el cálculo del resultado: nulo o basal (NIL), antígeno TB (AGTB), y mitógeno (MIT). Se definió la conversión con el paso de IGRA1 negativo

a IGRA2 positivo en los dos cribados. El nivel de exposición de los contactos se escaló en tres categorías, según los criterios adaptados del protocolo de la Comunidad Valenciana: alto (>6 h al día, diario), medio (>6 horas al día, no diario) y ocasional¹⁰.

Las otras variables tenidas en cuenta en el análisis fueron: edad, sexo, país de nacimiento, baciloscopia de esputo (BK), localización de la TB (respiratoria), estado vacunal del contacto y concentración de vitamina D en suero. La edad se analizó como variable cuantitativa o categórica, dependiendo del tipo de análisis. Se escogió 35 años como punto de corte discriminador porque es frecuente que los protocolos lo tengan en cuenta en las recomendaciones de tratamiento de infección tuberculosa latente (TITL) por la toxicidad hepática de los fármacos usados en personas mayores¹⁰. La vacunación con bacilo de Calmette-Guerin (BCG) se valoró examinando la cicatriz en el hombro y teniendo en cuenta las pautas de vacunación del país de nacimiento. La Vitamina D se cuantificó a partir muestra de sangre tomada en la misma extracción que el QFT, determinando los niveles en suero de 25 hidroxivitamina D₃ (25[OH]D) por inmunoluminiscencia en el laboratorio de bioquímica del HGUCS, tal como se describió en el estudio anterior de Arnedo, *et al.*¹³.

Métodos estadísticos

En la parte descriptiva se han estimado las prevalencias de cada una de las variables y se ha usado el test de Chi² para comparación de proporciones. Después, según los tres objetivos marcados, las pruebas estadísticas han sido: En primer lugar, (a) test de Kappa de Cohen para la concordancia entre PT e QFT y test de McNemar para valorar el sesgo de prevalencia. Dado que el test Kappa de Cohen se ve influido por la prevalencia y el sesgo entre los dos observadores¹⁴, se ha estimado adicionalmente el PABAK (*Prevalence-adjusted Bias-adjusted Kappa*) utilizando el programa para cálculos biomédicos de la universidad de Pittsburg (<http://www.hsps.pitt.edu/medcalc/>), con lo cual se mejora la equiparabilidad en las comparaciones. Ambos test tiene valores entre -1 y +1; los valores positivos indican mayor concordancia a medida que se aproximan a la unidad. En segundo lugar, (b) se ha calculado el coeficiente de Spearman para la correlaciones bivariadas entre la PT (mm), la edad (años) y las concentraciones de los tubos del test QFT (NIL, AGTB, MIT y AGTB-NIL). Además, se ha realizado un análisis gráfico para valorar la relación entre PT e IGRA como variables cuantitativas: diagrama de dispersión, recta de regresión (estimación de R²) y curva descriptiva loess. Y en tercer lugar, (c) la estimación del riesgo de ITBL prevalente (PT1 y QFT1) y cada nivel de exposición se realizó mediante regresión logística multivariable, cálculo de *odds ratios* (OR) e intervalos de confianza al 95% (IC95%), ajustados por el resto de variables.

La estimación del riesgo de ITBL incidente (conversión), y los niveles de exposición se realizó mediante regresión de Poisson multivariable, cálculo del riesgo relativo (RR) y los IC95%, ajustados por las mismas variables que en el estudio de prevalencia. Los cálculos se han realizado con los paquete estadísticos SPSS v17 y Stata v.12.

Aspectos éticos

El estudio se ha desarrollado en el seno de un proyecto autorizado por el comité de ética del HGUCS sobre infección tuberculosa y vitamina D¹³; cada participante firmó un consentimiento informado previamente a la realización de las pruebas.

Resultados

En toda el área del CSPCS, entre diciembre de 2010 y marzo de 2014, se notificaron 156 casos de TB, lo que supone una tasa de 10 por 10⁵ habitantes al año. De ellos, el 73% fueron formas respiratorias. El número total de contactos estudiados en el área fue de 1547, entre los que 380 (25%) fueron considerados con ITL y 36 (2,3%) convertidores; se diagnosticaron 6 casos de TB (0,4%).

En este estudio solo se incluyeron los contactos examinados por la Unidad de Epidemiología del CSPCS con dos pruebas, PT y QFT, en paralelo. En total fueron 628 contactos de 85 casos de TB. Del total de esa población, hubo 583 (77%) con la información de todas las variables completa y las pruebas PT y QFT. Se diagnosticó un caso de TB durante el estudio de estos contactos.

Las características de la población incluida en el estudio se resumen en la Tabla 1, total y diferenciando por estado vacunal. Las prevalencias globales de ITL mediante la PT fueron siempre superiores a las estimadas con el test QFT como se muestra en la Tabla 2.

Concordancia y sesgo de prevalencia

Los resultados por edad y estado vacunal con el punto de corte de la PT en ≥ 5 mm se muestran en la Tabla 3. La concordancia mayor se observó en los no vacunados jóvenes; la menor, en vacunados mayores de 35 años (Kappa de 0,68 y 0,29, respectivamente). Las diferencias se intensifican si utilizamos el test de concordancia corregido, PABAK, (0,83 y 0,23, respectivamente). Tomando el punto de corte de la PT en ≥ 15 mm, la concordancia en no vacunados fue menor (Kappa 0,66 vs. 0,40 con PT de 5 y 15 mm respectivamente) y en vacunados aumentó (Kappa 0,32 vs. 0,41) [no se incluye la tabla de concordancias con punto de corte 15mm].

En la Tabla 3 podemos ver que globalmente el 54% (128 de 239) de los positivos a la PT no lo fueron al test QFT. Este por-

Tabla 1. Características de la población incluida en el estudio. Total y por estado vacunal BCG.

		BCG				Total (583)	Valor P (χ^2)	
		No (296)		Sí (287)				
Sexo	Mujer	135	45,6%	130	45,3%	265	45,5%	1,00
Edad	5-19 años	25	8,4%	10	3,5%	35	6,0%	<0,01
	20-34 años	105	35,5%	77	26,8%	182	31,2%	
	35-59 años	122	41,2%	191	66,6%	313	53,7%	
	≥60 años	44	14,9%	9	3,1%	53	9,1%	
Extranjero	Sí	7	2,4%	141	49,1%	148	25,4%	<0,01
BK del caso índice	Positivo	225	77,9%	207	73,1%	432	75,5%	0,207
Localización TB del caso índice*	TB respiratoria	261	88,2%	266	92,7%	527	90,4%	0,069
Nivel de exposición	Bajo	214	72,3%	182	63,4%	396	67,9%	0,070
	Medio	38	12,8%	47	16,4%	85	14,6%	
	Alto	44	14,9%	58	20,2%	102	17,5%	
PT1 categorizada	0-4 mm	217	73,3%	128	44,6%	345	59,2%	<0,01
	5-9 mm	17	5,7%	40	13,9%	57	9,8%	
	10-14 mm	33	11,1%	40	13,9%	73	12,5%	
	15-19 mm	22	7,4%	56	19,5%	78	13,4%	
	≥20 mm	7	2,4%	23	8,0%	30	5,1%	
PT1	Reactor ≥5mm	79	26,7%	160	55,7%	239	41,0%	<0,01
QFT1	Positivo	59	19,9%	64	22,3%	123	21,1%	0,543

BCG: Bacilod e Calmette Guerin; BK: baciloscopia de 11 casos no se dispone este dato.

Tabla 2. Prevalencia de infección tuberculosa latente en el primer cribado, según criterio utilizado sea la prueba de la tuberculina (PT1) o el test QFT (QFT1), por subgrupos de población.

		Total	PT1		QFT1		Dif-P
			≥ 5 mm	Prevalencia	≥ 0,35	Prevalencia	
Sexo	Mujer	265	97	36,6%	50	18,9%	17,7%
	Hombre	318	142	44,7%	73	23,0%	21,7%
Edad	< 35 años	217	68	31,3%	40	18,4%	12,9%
	≥35 años	366	171	46,7%	83	22,7%	24,0%
Extranjero	No	435	148	34,0%	80	18,4%	15,6%
	Sí	148	91	61,5%	43	29,1%	32,4%
BCG	No	296	79	26,7%	59	19,9%	6,8%
	Sí	287	160	55,7%	64	22,3%	33,4%
BK	Negativo	140	51	36,4%	25	17,9%	18,5%
	Positivo	432	186	43,1%	95	22,0%	21,1%
Nivel de exposición	Bajo	396	147	37,1%	74	18,7%	18,4%
	Medio	85	33	38,8%	15	17,6%	21,2%
	Alto	102	59	57,8%	34	33,3%	24,5%

DP: diferencia de prevalencias (PT1-QFT1); BCG: Bacilo de Calmette Guerin; BK: baciloscopia, de 11 casos no se dispone este dato.

Tabla 3. Concordancia entre la prueba de la tuberculina y el test QFT en el primer cribado (PT1 y QFT1), según vacunación BCG y grupo de edad. Puntos de corte para la infección tuberculosa: reactor PT si la induración fue ≥ 5 mm; y positivo QFT si la concentración $\geq 0,35$ UI/mL.

				QFT1		Total (prevalencia%)	Kappa Cohen*	PABAK**	Sesgo de prevalencia Valor P (McNemar)***
				Positivo	Negativo				
BCG no	< 35 años	PT1	Reactor	15	7	22 (17%)	0,68	0,83	0,549
			Negativo	4	104	108			
		Total (%)	19 (15%)	111	130				
	≥ 35 años	PT1	Reactor	36	21	57 (34%)	0,68	0,70	0,001
			Negativo	4	105	109			
		Total (%)	40 (24%)	126	106				
	Total	PT1	Reactor	51	28	79 (27%)	0,66	0,76	0,001
			Negativo	8	209	217			
		Total (%)	59 (20%)	237	296				
BCG sí	< 35 años	PT1	Reactor	20	26	46 (53%)	0,40	0,38	<0,001
			Negativo	1	40	41			
		Total (%)	21 (24%)	66	87				
	≥ 35 años	PT1	Reactor	40	74	114 (57%)	0,29	0,23	<0,001
			Negativo	3	83	86			
		Total (%)	43 (22%)	157	200				
	Total	PT1	Reactor	60	100	160 (56%)	0,32	0,28	<0,001
			Negativo	4	123	127			
		Total (%)	64 (22%)	223	287				
Total	< 35 años	PT1	Reactor	35	33	68 (31%)	0,54	0,65	<0,001
			Negativo	5	144	149			
		Total (%)	40 (18%)	177	217				
	≥ 35 años	PT1	Reactor	76	95	171 (47%)	0,42	0,44	<0,001
			Negativo	7	188	195			
		Total (%)	83 (23%)	283	366				
	Total	PT1	Reactor	111	128	239 (41%)	0,46	0,52	<0,001
			Negativo	12	332	344			
		Total (%)	123 (21%)	460	583				

*El test Kappa de Cohen fue significativamente distinto de 0 en todos los grupos; **PABAK: *Prevalence-adjusted Bias-adjusted Kappa*; ***Test de McNemar para datos apareados. Compara prevalencias PT1 e IGRA1, por ejemplo, en el primer estrato 15% vs 17%, valor P=0,549.

centaje asciende al 65% (74 de 114) en el grupo de vacunados mayores de 35 años. Es decir, entre los mayores vacunados, 2 de cada 3 contactos positivos a la PT fueron negativos al QFT. El patrón de discordancia más frecuente fue PT+/QFT-, sobre todo en vacunados reconocidos como tales. Pero se observó un patrón PT-/QFT+ en 12 contactos, 4 vacunados y 8 no vacunados, que significaron un 6% (4/64) y un 14% (8/59) de los IGRA positivos respectivamente (valor P= 0,172).

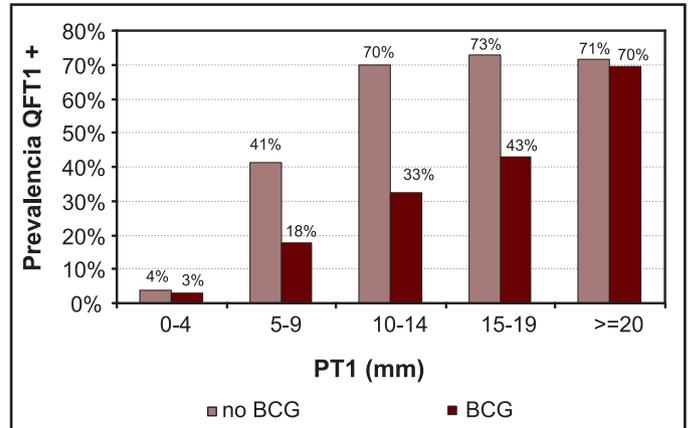
Respecto al sesgo de prevalencia, en el único estrato donde no se apreció diferencia estadísticamente significativa entre las prevalencias detectadas por cada test, fue en el de menores de 35 años no vacunados, con prevalencias de 17% (22/130) vs. 15% (19/130) con la PT e QFT respectivamente. Las mayores diferencias, de nuevo, se dieron en mayores de 35 años vacunados, en los que la prevalencia con la PT fue 2,6 veces superior a la determinada con el QFT: 57% vs. 22%.

Correlación y análisis gráfico cuantitativos

La prevalencia de ITBL estimada mediante el test QFT1 aumentó en las 5 categorías de induración de la PT1, pero de forma diferente en el grupo de vacunados y en el de no vacunados (Figura 1). Lo mismo ocurre con las concentraciones medias del QFT1 (Figura 2), cosa que se evidencia más cuando representamos las concentraciones obtenidas con el QFT en escala logarítmica. Los diagramas de dispersión entre PT en mm y QFT en UI/mL van en el mismo sentido (Figura 3). En los no vacunados y con la escala logarítmica QFT la variabilidad explicada (R^2) fue la mayor, un 51,4% (Figura 3, panel a). Las curvas Loess (Figura 3, panel b), menos sometidas a las constricciones de los test lineales, reflejan una relación lineal que se expresa a partir de los valores de induración entre 5 y 10 mm, de nuevo más patente entre los no vacunados.

La Tabla 4 muestra los coeficientes de correlación de Spearman entre las variables cuantitativas en vacunados y no vacunados. La correlación entre la dimensión de la induración en mm PT y la concentración de interferón gamma en el tubo AGTB fue la mayor y estadísticamente significativa, seguida de la del tubo NIL y del MIT, ya sin significación estadística. Cuando se calculó el coeficiente de correlación lineal de Pearson, los valores fueron ligeramente superiores (datos no mostrados).

Figura 1. Prevalencia de infección tuberculosa latente estimada mediante QFT en vacunados BCG y no vacunados en el primer cribado (QFT1) según el resultado de la prueba de la tuberculosis (PT1) categorizada en 5 grupos.



Asociación entre el nivel de exposición y la ITBL prevalente e incidente en contactos de TB respiratoria

En cuanto la prevalencia de ITBL en el grupo de contactos de pacientes con TB respiratoria (n = 527), se observó un riesgo asociado con el nivel de exposición alto, con OR en torno a 2,5, tanto para PT1 como para QFT1, pero no se observó asociación con el nivel medio de exposición (Tabla 5).

Figura 2. Medias e intervalo de confianza 95% del test QFT según categorías del resultado de la prueba de la tuberculosis, ambas realizadas en el primer cribado (QFT1 y PT1). Vacunados (línea verde) y no vacunados (negro). Escala lineal (izquierda) y logarítmica (derecha).

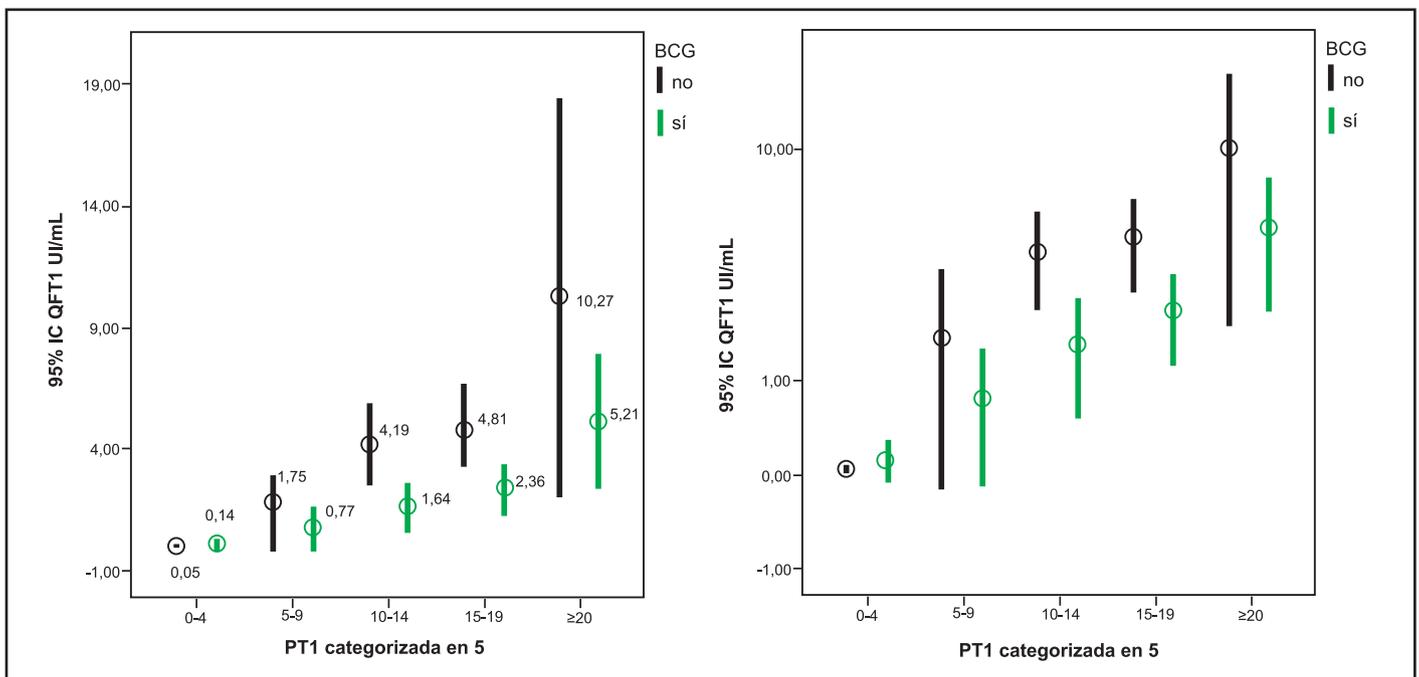


Figura 3. Diagrama de dispersión entre prueba de tuberculina y QFT del primer cribado (PT1 y QFT1) en vacunados (línea verde) y no vacunados (negro). Las líneas negras de trazo discontinuo señalan el umbral de positividad para cada prueba, QFT (0,35) y PT (5 mm). Panel superior (a): rectas de regresión y coeficientes de determinación R^2 . Panel inferior (b): curvas descriptivas Loess.

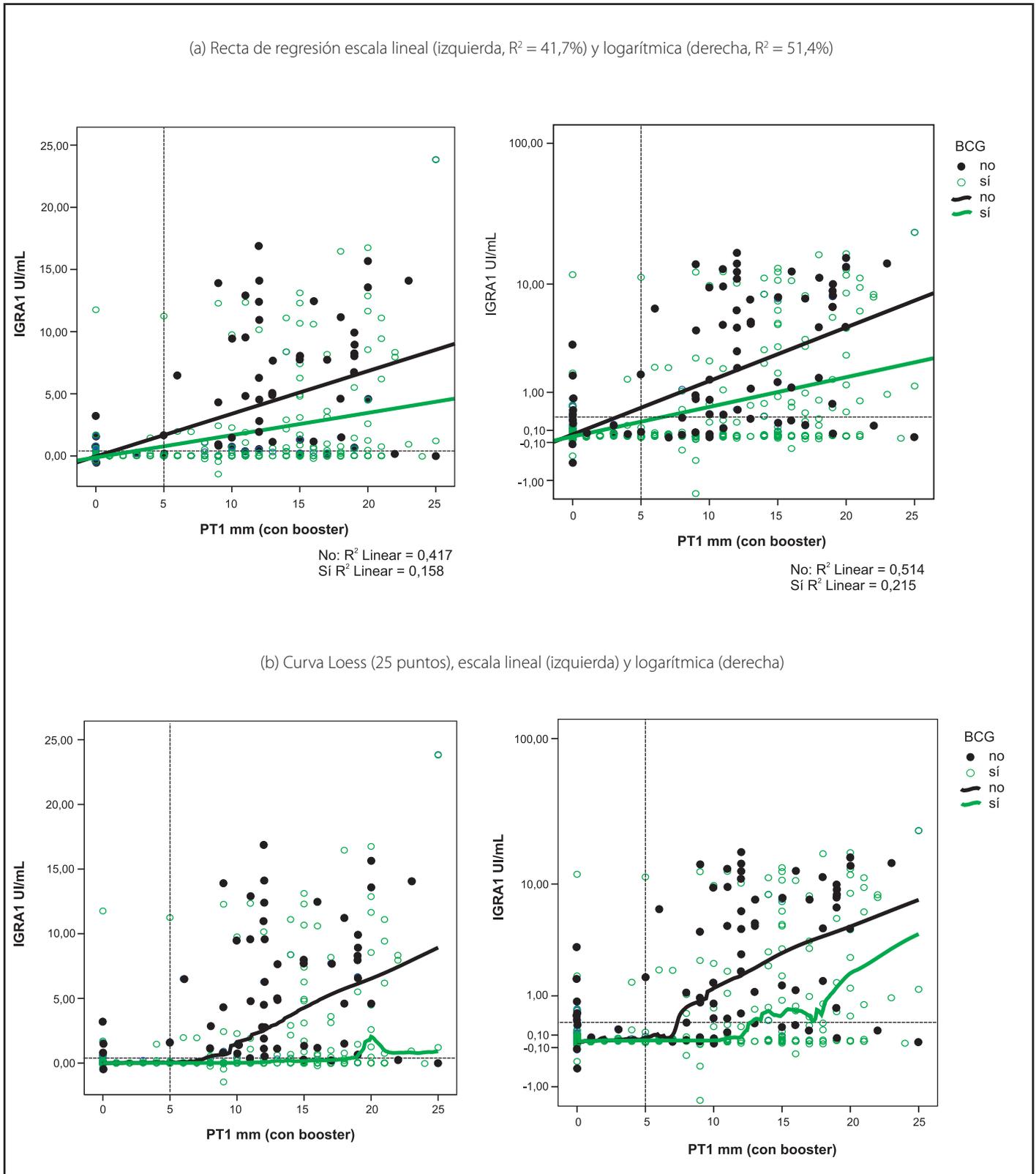


Tabla 4. Correlaciones (coeficiente de Spearman) entre la prueba de la tuberculina (PT1), la edad y las concentraciones de los tres tubos del test QFT en el primer cribado, de prevalencia. La diagonal con "1" separa el triángulo superior derecho para coeficientes en no vacunados (n=296), y triángulo inferior izquierdo para vacunados (n=287).

		PT1 mm	Edad	No vacunados BCG			AGTB1	MIT1	AGTB-NIL1
				NIL1					
Vacunados BCG	PT1 mm	1	0,191**	0,154**	0,613**	0,025	0,593**		
	Edad	0,034	1	0,096	0,197**	0,095	0,203**		
	NIL1	0,211**	-0,132*	1	0,546**	0,258**	0,066		
	AGTB1	0,454**	-0,150*	0,528**	1	0,059	0,778**		
	MIT1	0,105	0,105	0,250**	0,101	1	-0,070		
	AGTB-NIL1	0,374**	0,101	0,037	0,765**	-0,068	1		

NIL: tubo de control basal del test IGRA; AGTB: tubo conteniendo los antígenos TB; MIT: tubo e control positivo con mitógeno; *Correlación significativa a nivel 0,05;

**Correlación significativa al nivel 0,01.

Tabla 5. Asociación entre prevalencia de la infección latente tuberculosa valorada en el primer cribado mediante la tuberculina (PT1) o el test QFT1 y el nivel de exposición de los contactos. Regresión logística múltiple, odds ratio (OR) ajustadas e intervalos de confianza 95% (IC95%). Grupo de contactos de TB respiratoria (n=527).

Variable independiente	Variable dependiente dicotómica				
	OR (IC95%)	PT1 ≥ 5 mm	Valor P	IQFT1 ≥ 0,35 UI/mL	Valor P
Sexo (hombre)	1,60 (1,10-2,33)		0,015	1,40 (0,91-2,16)	0,129
Edad (años)	1,03 (1,02-1,05)		<0,001	1,03 (1,01-1,04)	0,002
Extranjero	2,39 (1,39-4,10)		0,002	2,35 (1,27-4,36)	0,007
Vacuna BCG	2,30 (1,49-3,56)		<0,001	0,72 (0,42-1,21)	0,212
Baciloscopia +	1,70 (1,09-2,66)		0,019	1,62 (0,95-2,77)	0,079
Vitamina D (primer cribado)	1,02 (1,00-1,04)		0,015	1,02 (0,99-1,04)	0,094
Nivel de exposición					
Bajo	Referencia			Referencia	
Medio	0,73 (0,42-1,25)		0,252	0,73 (0,38-1,40)	0,729
Alto	1,97 (1,16-3,35)		0,012	2,00 (1,15-3,48)	0,014

Tabla 6. Características de los 15 convertidores según el test QFT en las dos pruebas (QFT1 y QFT2).

Nº	BK del caso	Cultivo del caso	Sexo	Edad	BCG	Exposición	PT1	PT2	QFT1	QFT2	Dif.
1	Negativo	Positivo	Mujer	49	Sí	Medio	0	17	0,02	8,26	8,24
2	Positivo	Positivo	Mujer	45	Sí	Alto	0	18	0,04	6,51	6,47
3	Positivo	Positivo	Hombre	23	Sí	Alto	9	20	0	11,79	11,79
4	Positivo	Positivo	Mujer	32	Sí	Bajo	0	20	0,03	5,19	5,16
5	Positivo	Positivo	Hombre	56	Sí	Bajo	10	15	0	0,67	0,67
6	Negativo	Positivo	Hombre	44	No	Medio	8	20	0,34	19,71	19,37
7	Positivo	Positivo	Hombre	22	No	Bajo	0	14	0,01	7,89	7,88
8	Positivo	Positivo	Hombre	18	No	Bajo	0	20	0,01	4	3,99
9	Positivo	Positivo	Mujer	34	No	Medio	0	12	0,01	0,47	0,46
10	Positivo	Positivo	Hombre	66	No	Alto	0	15	0,01	1,89	1,88
11	Positivo	Positivo	Hombre	69	No	Bajo	13		0,32	0,77	0,45
12	Positivo	Positivo	Hombre	36	No	Bajo	15		0,25	0,47	0,22
13	Positivo	Positivo	Mujer	28	No	Medio	0	21	0,05	8,64	8,59
14	Positivo	NR	Mujer	21	No	Alto	0	22	0,01	8,77	8,76
15	Positivo	Positivo	Hombre	39	No	Bajo	3	0	0,21	0,43	0,22

PT1: Primera prueba de la tuberculina con booster; PT2: Segunda prueba de la tuberculina a las 10-10 semanas; IGRA1: Primer IGRA; IGRA2: segundo IGRA a las 10-12 semanas.

Tabla 7. Asociación entre conversión (incidencia de la infección latente tuberculosa) valorada mediante la variación entre el test QFT y el nivel de exposición de los contactos entre el primer cribado y el segundo. Grupo de contactos de TB respiratoria con dos pruebas de cribado (n=251). Todos los convertidores se dieron entre los contactos de TB respiratoria.

Variable independiente	Convertidores QFT				
	Todos (15 convertidores)		Sin dudosos (11 convertidores)		
	RR (IC95%)	Valor P	RR (IC95%)	Valor P	
Sexo (hombre)	1,54 (0,53-4,48)	0,430	1,16 (0,34-4,01)	0,810	
Edad (años)	0,99 (0,94-1,03)	0,534	0,98 (0,93-1,03)	0,481	
Extranjero	0,31 (0,04-2,13)	0,232	0,41 (0,05-3,44)	0,411	
Vacuna BCG	0,76 (0,20-2,91)	0,685	0,78 (0,15-3,93)	0,763	
Baciloscopia +	2,06 (0,43-9,98)	0,369	1,27 (0,24-6,81)	0,784	
Vitamina D (primer cribado)	0,95 (0,90-1,01)	0,126	0,95 (0,89-1,02)	0,189	
Nivel de exposición*	Bajo	Referencia	Referencia		
	Medio	2,71 (0,78-9,49)	0,118	3,63 (0,78-16,5)	0,096
	Alto	7,24 (1,92-27,3)	0,004	11,1 (2,50-49,2)	0,002

Valor P del test χ^2 de tendencia lineal <0,01.

En cuanto a la incidencia, se tomó solo la cohorte de contactos de casos de TB respiratoria, no infectados en el primer cribado (QFT1 negativos) a los que se consideró indicado un segundo test. Hubo una cohorte total de 309 contactos citados para segundo test, de los que 58 no acudieron al seguimiento (36 varones; media de edad 34 años, desviación típica 11 años, mínimo 15 años y máximo 74 años). Por lo tanto, la participación, fue del 81% (251 contactos). Entre ellos hubo 15 convertidores (Tabla 6), lo que supone una incidencia global del 6%. Se observó un gradiente de riesgo según el nivel de exposición bajo, medio o alto, con incidencias de 3,9%, 9,5% y 14,3%, respectivamente. Los RR simples, tomando como referencia el nivel bajo de exposición, fueron 2,5 (0,75-8,03) y 3,7 (1,15-11,8). En el análisis multivariable se incrementa esta tendencia de menor a mayor riesgo, pero los resultados son más imprecisos posiblemente debido al escaso número de convertidores (Tabla 7). Uno de estos convertidores (diabético de 66 años nº 10 de la Tabla 6) enfermó durante el estudio de contactos, y el resto -todos con tratamiento de la ITBL- no habían enfermado en el momento de redactar este texto (enero 2017). Cuando excluimos a los convertidores "dudosos" (casos 5, 11, 12 y 15 de la Tabla 6) la magnitud de los RR se incrementaron.

Discusión

En este estudio se abordan tres aspectos del diagnóstico de la ILT en contactos inmunocompetentes de enfermos TB mediante la PT y el test QFT practicados de forma paralela. Hemos analizado la concordancia, la correlación cuantitativa y la relación con los niveles de exposición a los contactos de TB respiratoria.

Hemos encontrado notables diferencias de la concordancia en vacunados y no vacunados con BCG. Este hecho se ha constatado reiteradamente en estudios anteriores, aunque la magnitud de los índices Kappa de Cohen es muy distinta¹⁵⁻¹⁸, incluso en niños¹⁹. Un estudio en Palma de Mallorca sobre contactos de pacientes TB y usando 5 mm como punto de corte para la PT²⁰, estima valores del test de Kappa de 0,20 para vacunados y 0,54 para no vacunados, y también observan, como nosotros, mejor concordancia en sujetos jóvenes (Kappa = 0,72). El único grupo en que no observamos sesgo de prevalencia fue en jóvenes no vacunados. En un estudio danés realizado en 2002, con QFT de primera generación, estimó una concordancia excelente (Kappa de 0,87) en no vacunados y población joven²¹. También observan una mejora de la concordancia en población joven en estudios sobre población general saudí²². Aparte del efecto propio de la edad, habría que considerar la posibilidad de que en los no vacunados de mayor edad hubiera algún vacunado mal clasificado. Por otra parte, Domínguez, *et al*²³ analizaron la concordancia en 3 grupos distintos de personas: pacientes con TB, contactos y cribado general, distinguiendo vacunados BCG y no vacunados en cada uno de esos grupos. Sus resultados son algo inferiores a los nuestros (Kappa 0,06 y 0,44 en contactos vacunados y no vacunados, respectivamente); aunque la prevalencia de ITBL determinada por PT>5mm fue muy alta (63% y 89%), lo que influye en los resultados e influye en la comparación. En los estudios de contactos con dos cribados consecutivos, se ha descrito que la concordancia es mejor después del "periodo ventana" de 2 meses, pasando el índice de Kappa de 0,69 en el cribado inicial a 0,81 en no vacunados¹⁸. En el otro extremo, sin embargo, Lee *et al.* no encuentran concordancia ninguna en contactos vacu-

nados ($Kappa = 0$)²⁴. En nuestro estudio, la incorporación del índice PABAK para mejorar la equiparabilidad, incrementa las diferencias entre los grupos, y la concordancia en jóvenes no vacunados mejora sensiblemente. Este mismo índice ajustado es el usado en un metaanálisis reciente donde se analiza la concordancia PT vs. IGRA a partir de 30 estudios en trabajadores sanitarios²⁵. El uso de distintos puntos de corte de la PT influye en el índice de Kappa²⁶ y en los valores predictivos de desarrollar la enfermedad²⁷. Hemos observado que esta influencia puede ocurrir de manera divergente en no vacunados (empeora la concordancia) y vacunados (mejora), fenómeno que ya ha sido descrito previamente²⁰ y puede explicarse si consideramos que los contactos con PT entre 5 y 14 mm “verdaderos positivos” se encuentran mayormente entre los no vacunados, y los “falsos positivos” (reacción vacunal) entre los vacunados.

Existen, como es de esperar, resultados discordantes. Los más comunes son la combinación PT+/QFT-, atribuibles en gran medida a la BCG, aunque también a la edad^{28,29}. El otro patrón de discordancia, PT-/QFT +, lo observamos en un 10% de los contactos QFT + (12/123), y es más difícil de explicar. En poblaciones de bajo riesgo de infección y de progresión, excluidos los fallos en la técnica de Mantoux, se aconseja interpretarlos como falsos positivos, por el contrario, en poblaciones de alto riesgo de progresión, como positivos¹¹.

En cuanto al segundo objetivo, hemos observado que existe cierto grado de correlación cuantitativa entre ambas pruebas a pesar de que las unidades de medida sean tan distintas en la prueba *in vivo* e *in vitro* (mm y UI/mL). El análisis de la prevalencia determinada con los test IGRAs según categorías crecientes del tamaño de la induración la PT, ha sido realizado en diversos estudios^{21,26,30,31}. Sin embargo, no es muy frecuente expresar estos resultados distinguiendo vacunados de no vacunados como hacemos en la Figura 1, donde se aprecian diferencias muy notables en el perfil de ambos grupos.

La escala logarítmica para representar la magnitud del resultado del test QFT ha sido utilizada previamente por Diel *et al*¹⁶. En ese estudio se vio que el nivel de respuesta del QFT era mayor en los contactos con reacción más intensa a la PT, de manera semejante a lo observado por nosotros en la Figura 2. Cuando examinamos los datos a nivel individual mediante diagramas de dispersión o coeficientes de correlación ocurre que también la escala logarítmica mejora la correlación. Ahora bien, existe una notable dispersión de resultados que desaconseja establecer predicciones a nivel individual. Lo que se observa es que, en promedio, a mayores valores de una prueba mayores de la otra. De forma particularmente interesante, las curvas loess sugieren que podría haber mayor correlación lineal a partir de un umbral

de reacción positiva a la PT, en torno a 5 y 10 mm en no vacunados y a partir de 15 mm en vacunados. Como se ve, de nuevo, en el análisis desde un punto de vista cuantitativo, el antecedente vacunal marca diferencias notables. La poca correlación (o ninguna) de la PT con los tubos NIL y MIT apoyan – a modo de control estadístico – la “especificidad” de la correlación entre PT y AGTB.

En cuanto al tercer objetivo, la conversión valorada con QFT fue mejor indicador de riesgo que la ITBL prevalente valorada con la PT o el QFT. Ambas pruebas de ITBL prevalente se han comportado de manera muy parecida cuando analizamos el riesgo asociado a cada nivel de exposición. La vacunación con BCG solo se asoció con la ITBL determinada mediante PT y no con el test QFT, como era de esperar. La OR para el nivel de mayor exposición es similar a la estimada por Altet *et al.* con el mismo criterio (contacto diario >6 horas, Tabla 3 de esa referencia²⁷, y a la de otros estudios, aunque la exposición no siempre es valorada de igual modo³². Sin embargo, el nivel de exposición intermedio no presentó mayor riesgo de ITBL prevalente con ninguno de las dos pruebas, quizá porque en nuestro estudio haya una proporción semejante de infecciones antiguas en los niveles bajo e intermedio de exposición conduciendo a un sesgo hacia la nulidad. Esto se ve corroborado al analizar la incidencia, o conversión, sin problemas de mala clasificación de la infección reciente (Tabla 6). Vemos que entonces sí existe un claro gradiente de riesgo con los 3 niveles de exposición. Así, la mezcla de infección reciente y antigua en el estudio de prevalencia podría explicar parte de esta “amortiguación” de resultados. Además, cuando excluimos los casos de conversión dudosa (valores bajos de QFT2), los RR asociados con la exposición se incrementan, tal vez debido a que esas conversiones no eran verdaderas conversiones. En el modelo de tasas hemos preferido calcular los RR ajustados por todas las variables que estaban asociadas “significativamente” ($p < 0,05$ o casi) en el modelo de prevalencia de ITBL (Tabla 5) independientemente de su significación estadística, ya que con solo 15 (u 11) casos de conversión predomina la relevancia biológica y epidemiológica frente a la estadística.

Este estudio tiene limitaciones. Unas son las propias de las técnicas de diagnóstico de ITBL, que carecen de *gold estándar*. Tal como establece el consenso de TBNET³³, tanto las pruebas *in vivo* como *in vitro* están diseñadas para identificar la respuesta inmune adaptativa contra *M. tuberculosis*, no necesariamente una infección latente, sea esta antigua o reciente. Pero entretanto surgen otras pruebas, estas son las que se mantienen en las guías más actuales españolas³⁴ e internacionales¹¹. Otras son posibles errores en la medición de la respuesta a la PT. En este estudio la PT y el QFT han sido realizadas por el mismo equipo durante todo el periodo. El resultado de la PT en vacunados incluye *booster*. La

determinación del nivel de exposición ha sido la que recomienda el protocolo de la Comunidad Autónoma Valenciana, semejante al usado en otros estudios²⁷. Pero, aún así, no es una medición de la que conozcamos su validez y reproductibilidad. Otros enfoques posibles son las horas acumuladas de exposición³⁰, o días²⁷, características del lugar^{24,32} y combinaciones de varios aspectos para elaborar un escore^{35,36}. Este es un problema no resuelto satisfactoriamente de forma general. Aun así, en el análisis de la incidencia de ITBL se ha desvelado una relación dosis-respuesta entre el nivel de exposición y el riesgo de conversión, lo cual sugiere que sí que se ha discriminado razonablemente bien. En lo relativo al índice Kappa de Cohen, cuando se hacen comparaciones, estas pueden ser erróneas de no acompañarse de datos de prevalencia y sesgo¹⁴ por lo que hemos complementado este cálculo con el PABAK. Para definir la conversión hemos usado exclusivamente el cambio de respuesta al QFT y no a la PT por los problemas que plantea esta definición en el grupo de vacunados y porque se eliminaron aquellos sujetos PT+/QFT- a los que se repitió el QFT y no la PT. Respecto a las pérdidas de seguimiento en el estudio de incidencia, la participación fue superior al 80%, lo que confiere cierta validez externa al estudio.

Podemos sintetizar las conclusiones en dos apartados. En primer lugar, queda patente la influencia de la vacunación previa con BCG en los resultados de la PT, sobre todo en personas mayores, incluso muchos años después de haber sido vacunadas. Por ello, es recomendable que cualquier análisis epidemiológico de la PT debería darse siempre estratificado, por lo menos, por estado vacunal BCG. La mayor utilidad del uso de QFT fue en personas vacunadas mayores de 35 años: dos de cada tres positivas a la PT fueron negativas al QFT. En los no vacunados jóvenes el uso de una u otra prueba fue indiferente.

En segundo lugar, ambas pruebas se comportan como pruebas cuantitativas *in vivo* (milímetros) o *in vitro* (concentración de interferón gamma). En el caso de la tuberculina, se ha afirmado de manera diáfana por la SEPAR: "A mayor diámetro de la induración obtenida, más probabilidad de (...) infección natural por *Mycobacterium tuberculosis*". Esto es coherente con la consuetudinaria designación de puntos de corte distintos para la PT (5, 10, 15 mm)^{5,10,11} según interese modificar la sensibilidad o la especificidad de la prueba, como en cualquier test diagnóstico cuantitativo. Y si consideramos la conversión tuberculínica esto cobra mayor aún importancia. En el caso de la PT se exige un incremento "suficiente" para aceptarla como tal (más de 6 o 10 mm)^{10,37}. Es decir, la valoración del incremento incorpora la variabilidad de la prueba. Todo esto ha sido propuesto también para las pruebas IGRAs. Por ejemplo, puntos de corte de 0,20 UI/mL^{26,31} y 0,70 UI/mL²⁴, dentro de esa "zona gris" en la que se observan conversiones y reversiones que se evidencian en

estudios seriados^{37,38}, como, por otra parte, ya estaba descrito para la PT hace casi 20 años³⁹. A mayor abundamiento, muy recientes resultados publicados encuentran un punto de corte óptimo de 0,168 UI/mL mediante curvas ROC para diagnóstico de TB para el QTG y el nuevo QuantiFERON-TB Gold Plus (con el tubo 2 CD8+)⁴⁰. En resolución, nuestros resultados apoyan esta interpretación –cuantitativa– del QFT, semejante a la PT. Es posible que las decisiones en la práctica clínica y epidemiológica sean más fáciles de tomar ante resultados "blanco o negro", y aunque las razones de verosimilitud no vengán a solucionar todos los problemas, es posible que tanto al clínico como al epidemiólogo les convenga familiarizarse con la zona gris^{41,42}, y que tal vez eso ayude a mejorar sus decisiones.

Agradecimientos

JV Juan-Cerdán, D García-Ferrer, J Iborra Millet, del Laboratorio de Análisis Clínicos HGUCS.

Bibliografía

1. Anónimo. Centro Nacional de Epidemiología. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Resultados de la Vigilancia Epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2014. Madrid, 2016.
2. Bellido Blasco JB. Stichreaktion, punctirreacción centenaria. *Med Clin*. 2007;128(14):555-7.
3. González-Martín 2010 González-Martín J, García-García JM, Aníbarro L, Vidal R, Esteban J, Blanquer R, et al. Documento de consenso sobre el diagnóstico, tratamiento y prevención de la tuberculosis. *Arch Bronconeumol*. 2010;46(5):255-74.
4. CCDR 2008 Anónimo. Canadian tuberculosis Committee. Update recommendations on interferon gamma release assays for latent tuberculosis infection. *CCDR*. 2008;1-13.
5. Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K; IGRA Expert Committee.; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep*. 2010;59(RR-5):1-25.
6. Ruiz-Manzano J, Blanquer R, Calpe JL, Caminero JA, Caylà J, Domínguez JA, et al. Diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis. *Arch Bronconeumol*. 2008;44(10):551-66.
7. Lalvani A, Pareek M. Interferon gamma release assays: principles and practice. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(4):245-52.
8. Arias-Guillen M. Avances en el diagnóstico de la infección tuberculosa. *Arch Bronconeumol*. 2011;47(10):521-30.
9. Domínguez J, Latorre I. Aplicación y utilidad actual de las técnicas de interferón- γ en el diagnóstico de la tuberculosis. *Enf Infecc Microbiol Clin*. 2015;33(Supl):15-9.
10. Blasco-Asensio D, Carbó-Malonda R, González-Morán F, Monparler-Carrasco P, Peñuelas-Ruiz A, et al. Guía para la Vigilancia y el Control de la Tuberculosis. Conselleria de Sanitat, Generalitat Valenciana Valencia 2007.
11. Lewinsohn DM, Leonard MK, LoBue PA, Cohn DL, Daley CL, Desmond E, et al. Official American Thoracic Society/Infectious Diseases

- Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children. *Clin Infect Dis*. 2017;64(2):111-5.
12. Domínguez J. IGRAs evolution. *Rev Enf Emerg*. 2016;15(3):172-3.
 13. Arnedo-Pena A, Juan-Cerdán JV, Romeu-García MA, García-Ferrer D, Holguín-Gómez R, Iborra-Millet J, et al. Vitamin D status and incidence of tuberculosis infection conversion in contacts of pulmonary tuberculosis patients: a prospective cohort study. *Epidemiol Infect*. 2015;143(8):1731-41.
 14. Byrt T, Bishop J, Carlin JB. Bias, prevalence and kappa. *J Clin Epidemiol*. 1993; 46(5):423-9.
 15. Belleste B, Coberly J, Barnes GL, Ko C, Chaisson RE, Comstock GW, et al. Evaluation of a whole-blood interferon-gamma release assay for the detection of Mycobacterium tuberculosis infection in 2 study populations. *Clin Infect Dis*. 2002;34(11):1449-56.
 16. 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(10):1164-70.
 17. Marco-Mouriño A, Orcau-Palau A, Jané-Galliga N, Escribano-Ibáñez M, Caylà-Buqueras JA, Solé-Zapata N, et al. Concordancia de las pruebas de tuberculina e interferon gamma en población reclusa. *Rev Esp Sanid Penit*. 2011;13:15-20.
 18. Anibarro L, Trigo M, Villaverde C, Pena A, González-Fernández A. Tuberculin skin test and interferon- γ release assay show better correlation after the tuberculin "window period" in tuberculosis contacts. *Scand J Infect Dis*. 2011;43(6-7):424-9.
 19. Altet-Gómez N, de Souza-Galvao ML, Latorre I, Milà 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.
 20. González-Moreno J, García-Gasalla M, Cifuentes Luna C, Mir Villadrich I, Pareja Bezares A, et al. Experiencia en una unidad monográfica de tuberculosis: los primeros 500 casos. *Arch Bronconeumol*. 2013;49(10):421-6.
 21. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170(1):65-9.
 22. Balkhy HH, El Beltagy K, El-Saed A, Aljasir B, Althaqafi A, Alothman AF, et al. Comparison of QuantiFERON-TB gold in tube test versus tuberculin skin test for screening of latent tuberculosis infection in Saudi Arabia: A population-based study. *Ann Thorac Med*. 2016;11(3):197-201.
 23. Domínguez J, Ruiz-Manzano J, De Souza-Galvão M, Latorre I, Milà C, Blanco S, et al. Comparison of two commercially available gamma interferon blood tests for immunodiagnosis of tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol*. 2008;15(1):168-7.
 24. Lee SS, Liu YCh, Hiuang TS, Chen YS, Tsai HCh, Wann SR, et al. Comparison of the interferon-gamma release assay and the tuberculin skin test for contact investigation of tuberculosis in BCG-vaccinated health care workers. *Scand J Infect Dis*. 2008 40:373-80.
 25. Doosti-Irani A, Ayubi E, Mostafavi E. Tuberculin and QuantiFERON-TB-Gold tests for latent tuberculosis: a meta-analysis. *Occup Med*. 2016;66(6):437-45.
 26. 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 tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175(6):618-27.
 27. Altet N, Dominguez J, de Souza-Galvao ML, Jiménez-Fuentes MJ, Milà C, Solsona J, et al. Predicting the development of tuberculosis with the tuberculin skin test and QuantiFERON testing. *Annals ATS*. 2015;12(5):680-8.
 28. Ballaz A, Salinas C, Aguirre U, López de Goicoechea MJ, Diez R, Egurrola M. Análisis de la discordancia entre la prueba de la tuberculina y el QuantiFERON-TB® Gold In-Tube en estudios de contactos. *Med Clin*. 2013;140(7):289-95.
 29. Ghassemieh BJ, Attia EF, Koelle DM, Mancuso JD, Narita M, Horne DJ. Latent Tuberculosis Infection Test Agreement in the National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;194(4):493-500.
 30. 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(4):1010-8.
 31. Mahan CS, Johnson DF, Curley C, van der Kuyp F. Concordance of a positive tuberculin skin test and an interferon gamma release assay in bacille Calmette-Guérin vaccinated persons. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15(2):174-8.
 32. Aissa K, Madhi F, Ronsin N, Delarocque F, Lecuyer A, Decludt B, et al. Evaluation of a model for efficient screening of tuberculosis contact subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177:1041-7.
 33. Mack U, Migliori GB, Sester M, Rieder HL, Ehlers S, Goletti D, et al. LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune responses to M. tuberculosis? A TBNET consensus statement. *Eur Respir J*. 2009;33:956-73.
 34. Santin M, García-García JM, Domínguez J; Panel of experts from the Mycobacteria Study Group (GEIM) of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC) and the Spanish Society of Respiratory Diseases and Thoracic Surgery (SEPAR). Guidelines for the use of interferon- γ release assays in the diagnosis of tuberculosis infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34(5):303.e1-13.
 35. Shams H, Weiss SE, Klucar P, Lalvani A, Moonan PK, Pogoda JM, et al. Enzyme-linked immunospot and tuberculin skin testing to detect latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172:1161-8.
 36. Hesselting AC, Mandalakas AM, Kirchner HL, -chegou NN, Marais BJ, Stanley K, et al. Highly discordant T cell responses in individuals with recent exposure to house hold tuberculosis. *Thorax*. 2009;64:840-6.
 37. Torres Costa J, Silva R, Sa R, Cardoso MJ, Nienhaus A. Serial testing with the interferon-gamma release assay in portuguese healthcare workers. *Int Arch Occup Environ Health*. 2010; On line DOI 10.1007/s00420-010-0571-x.
 38. Ringhausen F, Nienhaus A, Schablon A, Chlösser S, Schultze-Werninghaus G. Predictors of persistently positive Mycobacterium-tuberculosis-specific interferon-gamma responses in the serial testing of health care workers. *BMC Infectious Diseases*. 2010;10:220.
 39. Menzies D. Interpretation of repeated tuberculin test. Boosting, conversion and reversion. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:15-21.
 40. Yi L, Sasaki Y, Nagai H, Ishikawa S, Takamori M, Sakashita K, et al. Evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus for Detection of Mycobacterium tuberculosis infection in Japan. *Sci Rep*. 2016 Jul 29;6:30617. doi: 10.1038/srep30617.
 41. Coste J, Pouchot J. A grey zone for quantitative diagnostic and screening test. *Int J Epidemiol*. 2003; 32:304-13.
 42. Battaglia M, Pewsner D. Commentary: Black and white or shades of grey. *Int J Epidemiol*. 2003;32:314-5.