

**U. PORTO**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR  
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

UNIDADE CURRICULAR DISSERTAÇÃO/PROJETO/RELATÓRIO DE ESTÁGIO

**COMPARAÇÃO DE UM TESTE IGRA (*INTERFERON GAMMA  
RELEASE ASSAY*) COM O TESTE TUBERCULÍNICO NO  
DIAGNÓSTICO DA INFEÇÃO LATENTE POR *M. TUBERCULOSIS* EM  
DOENTES COM PSORÍASE**

Rita Quelhas da Costa

**Orientadora  
Maria Esmeralda Neves****Coorientadores  
Fátima Farinha  
Tiago Torres**

Ano Lectivo 2011/2012

Porto 2012

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>BCG</b>	Bacilo Calmette-Guérin
<b>IC</b>	Intervalo de confiança
<b>IGRA</b>	<i>Interferon-Gamma Release Assay</i>
<b><i>M. TUBERCULOSIS</i></b>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<b>OR</b>	<i>Odds ratio</i>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral $\alpha$
<b>TST</b>	Teste tuberculínico

## RESUMO

---

**INTRODUÇÃO** | As terapêuticas biológicas com anticorpos anti-TNF- $\alpha$  emergiram como uma alternativa eficaz no tratamento da psoríase. A sua utilização está associada a um aumento do risco de tuberculose, sobretudo devido à reativação de infeção latente.

**OBJETIVOS** | Avaliação da concordância entre o TST e um IGRA (QuantiFERON®-TB Gold In-Tube) no diagnóstico da infeção latente por *M. tuberculosis* em doentes com psoríase, propostos para terapêutica com anti-TNF- $\alpha$ , e análise comparativa dos resultados obtidos com dados demográficos, clínicos e epidemiológicos.

**METODOLOGIA** | A partir dos processos clínicos dos doentes, foi recolhida informação relativa ao estado de vacinação pela vacina BCG, fatores de risco para a tuberculose latente, dados demográficos, resultados do TST e do IGRA, entre outros.

**RESULTADOS** | Constatou-se uma baixa prevalência de fatores de risco para a infeção latente na amostra (17%). A concordância entre o desempenho do TST e do IGRA foi moderada (75,6%,  $\kappa = 0,418$ ,  $p = 0,006$ ). Observou-se uma maior proporção de testes negativos em indivíduos sob terapêutica imunossupressora em relação à amostra total estudada (63,6% vs. 58,5%). A idade foi um fator preditivo para resultados positivos no IGRA (OR 1,113; IC a 95% 1,015-1,221;  $p = 0,023$ ) e pareceu correlacionar-se com resultados positivos no TST (OR 1,072; IC a 95% 1,000-1,149;  $p = 0,05$ ).

**CONCLUSÃO** | A epidemiologia da tuberculose em Portugal e o risco de reativação da infeção em doentes sob terapêutica com anti-TNF- $\alpha$  justificam a necessidade de definição da estratégia mais adequada para o diagnóstico de tuberculose latente, utilizando métodos com elevada sensibilidade e especificidade.

Os resultados obtidos indicam que, neste tipo de doentes a utilização simultânea do TST e do IGRA continua a ser a melhor opção.

### PALAVRAS-CHAVE

Tuberculose. Infeção latente por *Mycobacterium tuberculosis*. Anti-TNF- $\alpha$ . Psoríase. Teste tuberculínico. QuantiFERON. *Interferon gamma release assays*.

## **ABSTRACT**

---

**INTRODUCTION** | Biologic therapy with anti-TNF- $\alpha$  antibodies has emerged as a suitable alternative for psoriasis treatment. Their use is associated with a greater risk of tuberculosis, mostly due to reactivation of latent infection.

**GOALS** | To evaluate the agreement between TST and an IGRA (QuantiFERON®-TB Gold In-Tube) in the diagnosis of latent tuberculosis infection in patients with psoriasis, candidates to anti-TNF- $\alpha$  treatment, and to analyse the obtained results according to the demographic, clinical and epidemiological data.

**METHODS** | Information was collected through consultation of clinical files, concerning demographic data, BCG vaccination status, risk factors for latent tuberculosis infection, TST and IGRA results and other clinical information.

**RESULTS** | There was a low prevalence of risk factors for latent tuberculosis infection in the sample (17%). The agreement between TST and IGRA's performance was moderate (75,6%,  $\kappa = 0,418$ ,  $p = 0,006$ ). Patients under immunosuppressive treatment revealed a greater proportion of negative tests compared with the total sample (63,6% vs. 58,5%). It was observed that age was a predictive factor for positive results with IGRA (OR 1,113; IC a 95% 1,015-1,221;  $p = 0,023$ ) and seemed to have a correlation with positive results with TST (OR 1,072; IC a 95% 1,000-1,149;  $p = 0,05$ ).

**CONCLUSION** | Tuberculosis epidemiology in Portugal and the risk of reactivation of the disease in patients under treatment with anti-TNF- $\alpha$  justify the definition of the most adequate strategy for latent tuberculosis infection based on methods with high sensitivity and specificity.

The results of this study suggest that the most sensible strategy continues to be the simultaneous use of both tests, as other authors refer.

## ÍNDICE

<b>Lista de Abreviaturas</b>	<b>II</b>
<b>Resumo</b>	<b>III</b>
Palavras-chave	III
<b>Abstract</b>	<b>IV</b>
<b>Introdução</b>	<b>1</b>
<b>Material e Métodos</b>	<b>3</b>
Desenho do estudo	3
Teste tuberculínico	4
QuantiFERON®-TB Gold In-Tube	4
Análise Estatística	4
<b>Resultados</b>	<b>6</b>
Caracterização da amostra	6
Resultados do TST e do IGRA	7
Concordância entre o TST e o IGRA	7
Fatores associados à concordância dos testes	8
Fatores associados aos resultados do TST e do IGRA	10
<b>Discussão</b>	<b>14</b>
<b>Conclusão</b>	<b>17</b>
<b>Agradecimentos</b>	<b>18</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>19</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela I</b> - Características da Amostra_____	6
<b>Tabela II</b> - Dose e duração da Terapêutica Imunossupressora _____	7
<b>Tabela III</b> - Estimativa da prevalência de tuberculose latente_____	8
<b>Tabela IV</b> - Comparação entre o TST e o IGRA em doentes imunocomprometidos _____	8
<b>Tabela V</b> - Comparação entre resultados concordantes e discordantes _____	9
<b>Tabela VI</b> - Características dos indivíduos TST+/IGRA- e TST-/IGRA+ _____	9
<b>Tabela VII</b> - Comparação entre resultados negativos e positivos no TST _____	11
<b>Tabela VIII</b> - Comparação entre resultados negativos e positivos no IGRA _____	12
<b>Tabela IX</b> - Fatores associados a um TST positivo e a um IGRA positivo (análise univariável) _____	12

## INTRODUÇÃO

---

O fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) é uma citocina pró-inflamatória produzida por macrófagos ativados em resposta a vários estímulos, internos ou externos ao organismo, cuja produção está na base da patogenia de diversas doenças inflamatórias do foro autoimune, como a psoríase.

O desenvolvimento da terapêutica com anticorpos anti-TNF- $\alpha$  e a sua aplicação no tratamento de doentes com psoríase representa uma alternativa eficaz no controlo da doença, sobretudo nos casos refratários aos tratamentos de aplicação tópica convencionais e à terapêutica imunossupressora não específica (1, 2).

Após a introdução dos anti-TNF- $\alpha$  no mercado, verificou-se que a sua utilização estava associada a um aumento do risco de tuberculose, sobretudo devido à reativação de infeção latente e, em muitos casos, com localização extra pulmonar, por vezes fatal (3-5).

Embora preocupante, este risco não foi surpreendente, uma vez que o TNF- $\alpha$  tem um papel fundamental na defesa contra o *M. tuberculosis*, pois potencia a resposta inflamatória, aumenta a capacidade fagocítica e microbicida dos neutrófilos e macrófagos, ativa fibroblastos, é fundamental para a formação de granulomas e impede a disseminação das micobactérias para outros locais (6).

Estas observações conduziram à instituição de quimioprofilaxia antes do início da terapêutica biológica nos casos de infeção latente, atitude que possibilitou uma significativa diminuição dos casos de reativação de tuberculose (7).

O sucesso desta estratégia levou à realização de estudos e à elaboração de recomendações, no sentido de alertar para a necessidade do rastreio generalizado da infeção em todos os doentes propostos para tratamento com anti-TNF- $\alpha$  (8-15).

Até muito recentemente, o rastreio da infeção latente baseava-se unicamente no teste da tuberculina (TST). Apesar da sua utilização generalizada e do seu baixo custo, tem algumas limitações, nomeadamente a possibilidade de ocorrência de resultados falsos negativos associados a anergia do sistema imunitário, presente em indivíduos imunocomprometidos, e de resultados falsos positivos devido a reatividade cruzada com a estirpe vacinal do bacilo Calmette-Guérin (BCG) ou com outras micobactérias não pertencentes ao complexo *M. tuberculosis* (16, 17).

De modo a ultrapassar estas dificuldades, foram desenvolvidos novos testes de realização *in vitro* denominados *Interferon-Gamma Release Assays* (IGRA), que se baseiam na avaliação da capacidade de produção de interferão- $\gamma$  pelos linfócitos T, em resposta à estimulação com antígenos presentes nas estirpes patogénicas do complexo *M. tuberculosis*. Os péptidos antigénicos utilizados têm a vantagem de estarem ausentes na estirpe vacinal e na maioria das micobactérias não tuberculosas, o que confere numa maior especificidade ao teste

(18-20).

Os IGRA são habitualmente utilizados em simultâneo com o TST para melhorar a capacidade de deteção de tuberculose ativa ou latente contudo, questiona-se se este aumento da sensibilidade é real e se será necessária a realização de dois testes com o mesmo fim.

A decisão relativa à administração de terapêutica profilática em doentes com patologias do foro autoimune, com indicação para iniciar terapêutica com anti-TNF- $\alpha$ , é particularmente difícil, atendendo a que se pode verificar uma diminuição da sensibilidade de ambos os testes, resultante da imunossupressão intrínseca da doença ou de terapêutica imunossupressora prévia (21, 22). Esta possibilidade dificulta a interpretação dos resultados dos testes e justifica o interesse na avaliação deste tipo de doentes, pouco estudados até à atualidade.

O presente trabalho propõe-se a analisar a concordância entre os resultados obtidos por um IGRA e pelo TST no diagnóstico da infeção latente por *M. tuberculosis* em doentes com psoríase, que vão iniciar terapêutica com anti-TNF- $\alpha$ .

## MATERIAL E MÉTODOS

---

### DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo transversal retrospectivo em doentes com psoríase, seguidos em ambulatório na consulta de Dermatologia do Hospital de Santo António, Centro Hospitalar do Porto, candidatos a tratamento com terapêutica anti-TNF- $\alpha$  entre março de 2007 e maio de 2012. Os participantes foram selecionados por amostragem não aleatória, de acordo com a conveniência, e os dados foram recolhidos entre 3 de abril e 31 de maio de 2012.

Os critérios de exclusão foram: idade inferior a 18 anos; gravidez conhecida; terapêutica anti-TNF- $\alpha$  em curso à data da realização do TST e do IGRA; doentes em tratamento concomitante ou há menos de um ano com tuberculostáticos; doentes diagnosticados com tuberculose ativa durante o período do estudo.

O estudo foi aprovado pelo Gabinete Coordenador de Investigação do Departamento de Ensino, Formação e Investigação, pela Comissão de Ética para a Saúde, pela Direção Clínica e pelo Conselho de Administração do Centro Hospitalar do Porto.

Os processos clínicos (em formato físico e eletrónico) dos doentes selecionados foram consultados e, a partir dos mesmos, foram recolhidos dados demográficos, informação clínica, estado de vacinação pela vacina BCG, fatores de risco para a tuberculose latente e os resultados do TST e do IGRA (QuantiFERON®-TB Gold In-Tube).

Na informação clínica constam o(s) diagnóstico(s) do doente (psoríase ou psoríase + artrite psoriática), a duração da doença, o tipo de terapêutica à data de realização do TST e do IGRA, assim como a dose e a duração do esquema terapêutico, e eventuais comorbilidades. Os doentes foram apenas considerados como estando sob o efeito de terapêutica imunossupressora sistémica se esta decorria há pelo menos quatro semanas. As comorbilidades consideradas relevantes foram: infeção pelo VIH, doença renal crónica em suporte dialítico, cirrose hepática na classe C de *Child-Pugh*, neoplasia (sólida ou hematológica diagnosticada e/ou submetida a tratamento nos últimos três anos), imunodeficiências primárias (com compromisso da imunidade celular), diabetes *mellitus* e silicose.

Os fatores de risco para a infeção latente pelo *M. tuberculosis* englobaram o nascimento ou residência superior a seis meses num país com prevalência da doença >20 casos/100000 habitantes, antecedentes de tuberculose, contato com indivíduos infetados e radiografia do tórax com achados compatíveis com sequelas de tuberculose pulmonar. Os antecedentes de tuberculose foram valorizados apenas nas situações em que houve um diagnóstico prévio e confirmado de tuberculose ativa. Assumiu-se existir contato com indivíduos infetados perante história familiar de tuberculose, história de exposição ocupacional à tuberculose ou história de contacto próximo com indivíduos com tuberculose pulmonar ativa. Os resultados da radiografia

do tórax foram apenas considerados quando efetuada no intervalo de tempo entre a realização dos dois testes ou, no máximo, com 30 dias de diferença, caso ambas as datas não estivessem registadas. O resultado da radiografia foi classificado como normal, com achados anormais não sugestivos de sequelas de tuberculose pulmonar (pneumonia lobar ou enfisema, por exemplo), ou com achados sugestivos de sequelas de tuberculose pulmonar [espessamento apical pleural, nódulos pulmonares (em especial, pequenos nódulos calcificados no lobo superior), bronquiectasias/distorção estrutural do lobo superior, calcificação granulomatosa intersticial, gânglios linfáticos hilares ou mediastínicos calcificados, calcificação pericárdica, cavitações/cavernas].

Por impossibilidade de selecionar apenas participantes que realizaram o TST e o IGRA no mesmo dia, atendendo ao seu número muito reduzido, foram também incluídos os participantes cujo período entre a realização de ambos os testes não ultrapassou os 13 dias.

#### **TESTE TUBERCULÍNICO**

O teste tuberculínico foi realizado de acordo com o método de *Mantoux*, injetando-se 0,1 ml de 2 unidades de tuberculina PPD RT 23 SSI (*Statens Serum Institut*, Copenhaga, Dinamarca) na derme da face anterior do antebraço esquerdo. A leitura do resultado foi realizada por profissionais de saúde 72 horas após execução do teste, de acordo com as características do doente, sendo o TST sido classificado como positivo ou negativo. Em indivíduos imunocompetentes, o TST é considerado positivo quando a induração é superior a 10 mm; no caso de indivíduos imunocomprometidos, o TST é positivo quando a induração é superior a 5 mm.

#### **QUANTIFERON®-TB GOLD IN-TUBE**

Foi recolhida uma amostra de sangue periférico para a realização do IGRA QuantiFERON®-TB Gold In-Tube (*Celtestis*, Carnegie, Austrália) e analisada de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram classificados como positivos, negativos ou indeterminados. O teste foi repetido nos indivíduos com resultados indeterminados e apenas o segundo resultado foi registado no respetivo processo clínico. Não se registaram resultados indeterminados na segunda determinação.

#### **ANÁLISE ESTATÍSTICA**

A análise estatística foi realizada no *software* IBM® SPSS® Statistics Versão 20.0.0 (IBM Corporation, Somers, Estados Unidos da América).

A caracterização da amostra incluiu a descrição do sexo, idade, diagnóstico, duração da doença, terapêutica imunossupressora, comorbilidades, vacinação com a vacina BCG e fatores

de risco para a tuberculose latente.

A concordância entre os resultados obtidos pelo TST e pelo IGRAs foi calculada pelo coeficiente  $\kappa$  de Cohen. Uma baixa concordância define-se como um valor de  $\kappa < 0,4$ , uma concordância moderada como um valor de  $\kappa$  entre 0,4 e 0,7 e uma elevada concordância como um valor de  $\kappa > 0,7$ .

A comparação das variáveis em estudo com os resultados do TST e do IGRAs foi realizada de duas formas: nas variáveis contínuas paramétricas, utilizou-se o teste *t-Student* para amostras independentes; nas variáveis categóricas, utilizou-se o teste de *Fisher*. Realizaram-se análises univariáveis por regressão logística para avaliar a associação entre os resultados do TST e do IGRAs com o sexo, idade, diagnóstico, terapêutica imunossupressora, comorbidades e contato com indivíduos infectados.

Foram utilizados testes de hipótese bilaterais e considerou-se estatisticamente significativo um valor de prova  $< 0,05$ .

## RESULTADOS

### CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Inicialmente, foram incluídos 75 participantes no estudo, dos quais foram excluídos 11, porque em 6 não foi possível obter qualquer informação relativa a pelo menos um dos testes realizados até ao fim do período definido para recolha dos dados; 1 participante estava sob tratamento com *Etanercept* à data da realização do IGRA; 1 participante estava proposto para outro tipo de terapêutica biológica e 3 participantes excediam o intervalo estipulado entre a realização do TST e do IGRA.

Dado o número reduzido de participantes com ambos os testes realizados, foram também incluídos no estudo os participantes com apenas um dos testes efetuado, passando a amostra final a ser constituída por 41 (64,1%) doentes que tinham realizado o TST e o IGRA, 13 (20,3%) apenas o TST e 10 (15,6%) apenas o IGRA. Não se registaram resultados indeterminados no IGRA, nem foram diagnosticados casos de tuberculose ativa. As características da amostra estão representadas na Tabela I.

Foram incluídos 59,4% de indivíduos do sexo masculino e 40,6% do sexo feminino, com mediana da idade de 49,5 anos. Relativamente ao diagnóstico, verificou-se um maior número de casos de psoríase (59,4%) do que de psoríase e artrite psoriática (40,6%).

Variáveis	Participantes n = 64
	n (%)
<b>Sexo</b>	
Masculino	38 (59,4)
Feminino	26 (40,6)
<b>Idade (anos)</b>	
Mediana (P25-P75*)	49,5 (38,5-56)
Válidos	64 (100)
<b>Diagnóstico</b>	
Psoríase	38 (59,4)
Psoríase + Artrite Psoriática	26 (40,6)
<b>Duração (anos)</b>	
Mediana (P25-P75*)	20 (16-25)
Válidos	50 (78,1)
Desconhecido†	14 (21,9)
<b>Terapêutica Imunossupressora</b>	
Não	42 (65,6)
Sim	22 (34,4)
Metotrexato	10 (15,6)
Ciclosporina A	12 (18,8)
<b>Comorbilidades</b>	
Não	59 (92,2)
Sim	5 (7,8)

	Diabetes Mellitus	5 (7,8)
<b>Vacinação</b>		
	Sim	11 (17,2)
	Desconhecido†	53 (82,8)
<b>Nascimento/Residência</b>		
	Não	63 (98,4)
	Sim	1 (1,6)
<b>Antecedentes</b>		
	Não	60 (93,8)
	Desconhecido†	4 (6,3)
<b>Contato</b>		
	Não	56 (87,5)
	Sim	4 (6,3)
	Desconhecido†	4 (6,3)
<b>Radiografia</b>		
	Normal	45 (70,3)
	Não sugestiva	5 (7,8)
	Sugestiva	5 (7,8)
	Desconhecido†	9 (14,1)

\*P25-P75: intervalo entre os percentis 25 e 75. †Nos casos em que a recolha de dados foi incompleta, a informação em falta foi classificada como desconhecida.

No que se refere à terapêutica, em 65,6% dos doentes o tratamento era tópico ou ausente, 18,8% estavam sob terapêutica com ciclosporina A e 15,6% com metotrexato. A dose e duração da terapêutica encontram-se discriminada na Tabela II.

A informação referente à vacinação não foi encontrada num elevado número de casos (82,8%), mas os restantes (17,2%) estavam vacinados.

Foram identificados fatores de risco para a tuberculose latente em 17% dos doentes, tendo em conta todos os fatores de risco avaliados, mas nenhum indivíduo apresentava mais do que um fator de risco.

**TABELA II - DOSE E DURAÇÃO DA TERAPÊUTICA IMUNOSSUPRESSORA**

<b>Terapêutica Imunossupressora</b>	<b>n (%)</b>	<b>Dose Média (DP*)</b>	<b>Duração Média (DP*)</b>
Ausente	42 (65,6)	-	-
Metotrexato	10 (15,6)	13,25 mg/sem (2,648)	14,30 meses (9,226)
Ciclosporina A	12 (17,2)	196,25 mg/dia (61,686)	8,67 meses (7,667)

\*DP: desvio-padrão.

## **RESULTADOS DO TST E DO IGRA**

### **CONCORDÂNCIA ENTRE O TST E O IGRA**

Entre os 41 doentes que realizaram ambos os testes, registaram-se 14 indivíduos (34,1%) com um TST positivo e 10 indivíduos (24,4%) com um IGRA positivo. Relativamente à

concordância entre os testes, 24 participantes (58,5%) apresentaram resultados negativos em ambos os testes e 7 indivíduos (17,1%) ambos os testes positivos, de que resulta uma concordância total de 75,6% ( $\kappa = 0,418$ ,  $p = 0,006$ ) e um acordo moderado entre os resultados do TST e do IGRA na amostra.

Uma vez que não existe um *gold standard* para o diagnóstico de tuberculose latente, a prevalência estimada na amostra foi diferente conforme o teste considerado. De acordo com a Tabela III, o TST demonstrou um maior número de resultados positivos quando utilizado isoladamente em relação ao IGRA, mas o critério “positividade em pelo menos um dos testes” permitiu identificar um maior número de prováveis casos de infecção latente pelo *M. tuberculosis*.

**TABELA III - ESTIMATIVA DA PREVALÊNCIA DE TUBERCULOSE LATENTE**

<b>Resultados</b>	<b>n (%)</b>
TST+	14 (34,1)
QTF+	10 (24,4)
TST+/QTF+	7 (17,1)
Pelo menos um dos testes positivo	17 (41,5)
Total	41 (100)

Nos 11 doentes a realizar terapêutica imunossupressora, verificou-se uma maior proporção de resultados negativos em ambos os testes (63,6%) (Tabela IV). O mesmo se verificou nos casos discordantes em que o TST foi positivo e o IGRA foi negativo (27,3%).

**TABELA IV - COMPARAÇÃO ENTRE O TST E O IGRA EM DOENTES IMUNOCOMPROMETIDOS**

		<b>TST</b>		<b>Total (%)</b>
		<b>Negativo (%)</b>	<b>Positivo (%)</b>	
<b>IGRA</b>	<b>Negativo (%)</b>	7 (63,6)	3 (27,3)	10 (90,9)
	<b>Positivo (%)</b>	0 (0,0)	1 (9,1)	1 (9,1)
<b>Total (%)</b>		7 (63,6)	4 (36,4)	11 (100)

#### **FATORES ASSOCIADOS À CONCORDÂNCIA DOS TESTES**

A relação entre as diferentes variáveis e a concordância dos pares foi igualmente avaliada, incluindo-se no grupo dos pares concordantes os indivíduos com TST negativo/IGRA negativo e TST positivo/IGRA positivo e nos grupos dos pares discordantes os indivíduos com TST positivo/IGRA negativo (7 indivíduos) e TST negativo/IGRA positivo (3 indivíduos). O grupo de pares concordantes foi composto por 31 indivíduos (75,6%), enquanto o grupo de pares discordantes continha 10 indivíduos (24,4%). Pelo facto de se estar perante um pequeno número de casos, optou-se por agrupar a realização de terapêutica imunossupressora num só grupo submetido a tratamento; o mesmo se aplicou aos resultados da radiografia de tórax, com a criação de um grupo composto pelas radiografias normais e pelas radiografias com achados não sugestivos de sequelas de tuberculose pulmonar.

Em nenhuma das associações estudadas se verificou a existência de diferenças entre os pares concordantes e discordantes (Tabela V). As variáveis vacinação, nascimento/residência e antecedentes não foram estudadas porque se mantiveram constantes em todos os pares.

**TABELA V - COMPARAÇÃO ENTRE RESULTADOS CONCORDANTES E DISCORDANTES**

Variável	n	Pares n = 41		p
		Concordantes	Discordantes	
<b>Sexo</b>				
Masculino	21	18	3	0,159*
Feminino	20	13	7	
<b>Idade (anos)</b>				
Média (DP‡)	-	46,10 (12,324)	51,10 (13,237)	0,279†
Válidos	41	31	10	
<b>Diagnóstico</b>				
Psoríase	24	19	5	0,714*
Psoríase + Artrite Psoriática	17	12	5	
<b>Duração (anos)</b>				
Média (DP‡)	-	19,62 (7,743)	20,43 (10,814)	0,830†
Válidos	28	21	7	
Desconhecido	13	-	-	
<b>Terapêutica Imunossupressora</b>				
Não	30	23	7	1,000*
Sim	11	8	3	
<b>Comorbilidades</b>				
Não	38	29	9	1,000*
Sim	3	2	1	
<b>Contato</b>				
Não	38	30	8	0,142*
Sim	3	1	2	
<b>Radiografia</b>				
Normal/Não sugestiva	36	26	10	0,556*
Sugestiva	3	3	0	
Desconhecido	2	-	-	

\*Teste de Fisher. †Teste *t-Student* para amostras independentes. ‡DP: desvio-padrão.

Ao caracterizar mais detalhadamente os dois tipos de pares que constituem o grupo discordante (Tabela VI), constata-se um maior número de doentes com psoríase e artrite psoriática, uma maior duração da doença e a realização de terapêutica imunossupressora com metotrexato nos indivíduos TST positivo/IGRA negativo.

**TABELA VI - CARACTERÍSTICAS DOS INDIVÍDUOS TST+/IGRA- E TST-/IGRA+**

Variável	n	Pares Discordantes n = 10	
		TST+/IGRA-	TST-/IGRA+
<b>Sexo</b>			
Masculino	3	2	1
Feminino	7	5	2

<b>Idade (anos)</b>				
	Média (DP*)	-	50,29 (12,932)	53,00 (16,703)
	Válidos	10	7	3
<b>Diagnóstico</b>				
	Psoríase	5	2	3
	Psoríase + Artrite Psoriática	5	5	0
<b>Duração (anos)</b>				
	Média (DP*)	-	17,50 (13, 772)	24,33 (5132)
	Válidos	7	4	3
	Desconhecido	3	3	0
<b>Terapêutica Imunossupressora</b>				
	Não	7	4	3
	Sim	3	3	0
	Metotrexato	-	3	0
<b>Comorbilidades</b>				
	Não	9	6	3
	Sim	1	1	0
<b>Vacinação</b>				
	Sim	2	2	0
	Desconhecido	8	-	-
<b>Nascimento/Residência</b>				
	Não	10	7	3
<b>Antecedentes</b>				
	Não	10	7	3
<b>Contato</b>				
	Não	8	5	3
	Sim	2	2	0
<b>Radiografia</b>				
	Normal	9	6	3
	Não sugestiva	1	1	0

\*DP: desvio-padrão.

## FATORES ASSOCIADOS AOS RESULTADOS DO TST E DO IGRA

Entre os 54 indivíduos que realizaram o TST, 31 (57,4%) apresentaram um resultado negativo e 23 (42,6%) apresentaram um resultado positivo. Realizou-se uma análise das associações entre os resultados do TST e os dados demográficos, informação clínica e fatores de risco para a tuberculose latente (Tabela VII). Os pressupostos indicados para a reorganização das variáveis na secção anterior foram novamente utilizados.

A idade média dos resultados negativos e positivos no TST foi diferente, com 45,61 anos (desvio-padrão = 12,268 anos) e 52,96 anos (desvio-padrão = 9,957 anos), respetivamente ( $p = 0,023$ ). Verificou-se também que a frequência de resultados negativos e positivos foi diferente conforme o diagnóstico do doente que se submeteu ao TST ( $p = 0,027$ ). Um dos fatores de risco para infeção latente, a história de contato com indivíduos infetados, demonstrou igualmente não estar presente da mesma forma entre os resultados do TST ( $p = 0,028$ ). Todas as outras variáveis não revelaram associações estatisticamente significativas com os

resultados do TST. As variáveis vacinação, nascimento/residência e antecedentes não foram estudadas porque se mantiveram constantes em todos os resultados do TST.

TABELA VII - COMPARAÇÃO ENTRE RESULTADOS NEGATIVOS E POSITIVOS NO TST

Variável	n	TST n = 54		p
		Negativo	Positivo	
<b>Sexo</b>				
Masculino	32	17	15	0,577*
Feminino	22	14	8	
<b>Idade (anos)</b>				
Média (DP‡)	-	45,61 (12,268)	52,96 (9,957)	0,023†
Válidos	54	31	23	
<b>Diagnóstico</b>				
Psoríase	29	21	8	0,027*
Psoríase + Artrite Psoriática	25	10	15	
<b>Duração (anos)</b>				
Média (DP‡)	-	18,63 (8,171)	22,12 (11,499)	0,262†
Válidos	41	24	17	
Desconhecido	10	-	-	
<b>Terapêutica Imunossupressora</b>				
Não	36	20	16	0,776*
Sim	18	11	7	
<b>Comorbilidades</b>				
Não	50	29	21	1,000*
Sim	4	2	2	
<b>Contato</b>				
Não	50	31	19	0,028*
Sim	4	0	4	
<b>Radiografia</b>				
Normal/Não sugestiva	44	27	17	0,387*
Sugestiva	5	2	3	
Desconhecido	5	-	-	

\*Teste de Fisher. †Teste *t-Student* para amostras independentes. ‡DP: desvio-padrão.

Dos participantes incluídos no estudo, 51 indivíduos possuíam resultado do IGRA, o qual foi negativo em 39 casos (76,5%) e positivo em 12 casos (23,5%). Algumas das variáveis foram agrupadas em novas categorias, conforme descrito nas secções anteriores.

Os resultados negativos e positivos do IGRA apresentaram uma média de idades diferente, com 45,10 anos (desvio-padrão = 11,736 anos) e 53,75 anos (desvio-padrão = 13,725 anos), respetivamente ( $p = 0,037$ ). As restantes variáveis estudadas não divergiram significativamente entre os resultados do IGRA (Tabela VIII). As variáveis vacinação, nascimento/residência e antecedentes não foram estudadas porque se mantiveram constantes em todos os resultados do IGRA.

TABELA VIII - COMPARAÇÃO ENTRE RESULTADOS NEGATIVOS E POSITIVOS NO IGRA

Variável	n	IGRA		p
		Negativo	Positivo	
IGRA n = 51				
<b>Sexo</b>				
Masculino	27	21	6	1,000*
Feminino	24	18	6	
<b>Idade (anos)</b>				
Média (DP‡)	-	45,10 (11,736)	53,75 (13,725)	0,037†
Válidos	51	39	12	
<b>Diagnóstico</b>				
Psoríase	33	24	9	0,502*
Psoríase + Artrite Psoriática	18	15	3	
<b>Duração (anos)</b>				
Média (DP‡)	-	18,86 (8,209)	23,44 (5,659)	0,129†
Válidos	37	28	9	
Desconhecido	14	-	-	
<b>Terapêutica Imunossupressora</b>				
Não	36	25	11	0,083*
Sim	15	14	1	
<b>Comorbilidades</b>				
Não	47	36	11	1,000*
Sim	4	3	1	
<b>Nascimento/ Residência</b>				
Não	50	39	11	0,235*
Sim	1	0	1	
<b>Contato</b>				
Não	44	33	11	1,000*
Sim	3	2	1	
Desconhecido	4	-	-	
<b>Radiografia</b>				
Normal/Não sugestiva	42	33	9	0,539*
Sugestiva	3	2	1	
Desconhecido	6	-	-	

\*Teste de Fisher. †Teste *t-Student* para amostras independentes. ‡DP: desvio-padrão.

Através da análise univariável de todos os fatores estatisticamente significativos ou clinicamente relevantes, a única associação que se manteve foi a dependência dos resultados positivos no IGRA relativamente ao aumento da idade (OR 1,113; IC a 95% 1,015-1,221;  $p = 0,023$ ) (Tabela IX). Embora esta associação não tenha sido comprovada em termos estatísticos para o TST, os resultados sugeriram a sua existência (OR 1,072; IC a 95% 1,000-1,149;  $p = 0,05$ ).

TABELA IX - FATORES ASSOCIADOS A UM TST POSITIVO E A UM IGRA POSITIVO (ANÁLISE UNIVARIÁVEL)

Variável	TST positivo			IGRA positivo		
	OR†	IC a 95%‡	p	OR†	IC a 95%‡	p
Mulher	0,427	0,088-2,071	0,291	0,966	0,123-7,588	0,974

Idade*	1,072	1,000-1,149	0,050	1,113	1,015-1,221	<b>0,023</b>
Psoríase	0,404	0,098-1,666	0,210	5,446	0,476-62,344	0,173
Ausência de Terapêutica Sistémica	2,948	0,607-14,315	0,180	0,000	0,000	0,999
Ausência de Comorbilidades	1,323	0,092-19,109	0,837	8,747	0,260-294,072	0,227
Ausência de contacto	0,000	0,000	0,999	0,000	0,000	0,999
Radiografia normal ou não sugestiva	0,443	0,049-4,011	0,469	0,421	0,016-11,330	0,607

\*A idade foi codificada como uma variável contínua. †OR: *Odds ratio*. ‡IC a 95%: índice de confiança a 95%.

## DISCUSSÃO

---

A tuberculose é um importante problema de Saúde Pública em Portugal. Segundo dados disponibilizados pela Direção-Geral da Saúde (23), a incidência de novos casos de infeção ativa em 2011 foi de 2231, ou seja, 21 novos casos por 100000 habitantes, o que torna Portugal o único país na Europa Ocidental com uma incidência intermédia da doença (>20 e <50 casos por 100000 habitantes).

Até à data, embora tenham sido efetuados vários estudos comparativos entre o TST e os IGRA na população em geral, não foram encontrados na literatura trabalhos realizados numa população com estas características. Esta particularidade revela-se importante, na medida em que a incidência intermédia da doença e uma elevada taxa de vacinação pela vacina BCG em Portugal evidenciam uma realidade epidemiológica diferente da de outras populações anteriormente estudadas.

Observou-se uma baixa prevalência dos fatores de risco para a tuberculose latente, o que corresponde, em termos epidemiológicos, ao que se encontra descrito para a população em geral. Em Portugal, na última década, em 65% dos novos casos de tuberculose em indivíduos de nacionalidade portuguesa não se detetou nenhum fator de risco conhecido, o que sugere um elevado potencial de transmissão na população nativa (23).

Entre os participantes que realizaram ambos os testes, constatou-se um número semelhante de resultados positivos no TST e no IGRA (Tabela III), embora, na sua maioria, discordantes, o que evidencia uma concordância baixa a moderada entre os testes analisados, conforme o que está descrito noutros estudos (24-26).

A psoríase, sendo uma doença que atinge os tegumentos, condiciona a realização e interpretação do TST. Alguns autores associam a maior gravidade ou área afetada pela doença a um aumento dos resultados positivos no TST (27), enquanto outros estudos evidenciam o contrário (25, 28-31); contudo, os resultados podem não ser comparáveis devido às diferentes metodologias utilizadas. Neste estudo, não foi possível testar esta hipótese, na medida em que os dados relativos à extensão e gravidade da doença não foram recolhidos.

A vacinação com a vacina BCG foi integrada no Plano Nacional de Vacinação português em outubro de 1965 (32), pelo que, muito provavelmente, a maior parte dos doentes nascidos após essa data terão sido vacinados, pelo menos uma vez. O estado vacinal foi considerado como uma variável importante para a análise dos resultados, atendendo a que pode ser uma das principais causas de discordância, particularmente nos casos TST positivos/IGRA negativos (8, 11, 12, 26, 33). No entanto, a ausência de registo na maior parte dos processos clínicos não possibilitou a referida análise.

Como forma de ultrapassar esta dificuldade e sabendo-se que a maior parte da população portuguesa foi vacinada na infância (23), que a mediana das idades dos indivíduos

em estudo é de 49,5 anos e que a duração da imunização conferida pela BCG é inferior a 15 anos (34, 35), considera-se que a positividade do TST neste contexto poderá corresponder a uma infeção latente por *M. tuberculosis*.

A caracterização dos grupos discordantes, ainda que não tenha permitido a realização de testes de hipótese, aparentou uma maior proporção de doentes com psoríase e artrite psoriática, uma maior duração da doença e a realização de terapêutica imunossupressora com metotrexato no grupo dos indivíduos TST positivo/IGRA negativo. Estas observações poderão apontar para uma perda de sensibilidade do IGRA nestas situações, hipótese que só poderá ser confirmada com estudos de grandes dimensões. A associação entre o grupo de indivíduos TST negativo/IGRA positivo e uma idade superior a 55 anos não se verificou nesta amostra (24), possivelmente devido ao reduzido número de casos.

Das análises univariáveis realizadas, verificou-se que o aumento da idade se apresentou como um fator preditivo de resultados positivos no IGRA e que pareceu igualmente estar associado a resultados positivos no TST. Tendo em conta que Portugal foi um país com uma elevada incidência de tuberculose até cerca de 1995, os indivíduos mais velhos possuem um maior risco de exposição ao *M. tuberculosis* (23), o que pode justificar as associações descritas.

Alguns autores referem ainda a associação entre os fatores de risco para a tuberculose latente e os resultados positivos em ambos os testes. Porém, a maior parte desses estudos foi realizada em países com uma baixa incidência de tuberculose, pelo que poderão não refletir a realidade portuguesa (8, 11, 12, 24, 36). O facto de não se ter verificado esta associação poderá estar relacionado com o elevado potencial de transmissão da infeção na comunidade.

Está descrita na literatura a influência do tratamento imunossupressor na diminuição da sensibilidade do TST e do IGRA, mais evidente no primeiro caso (8, 21, 37, 38). O impacto no IGRA é refletido no aumento dos resultados indeterminados, maioritariamente presentes em indivíduos com um TST negativo, reforçando a possibilidade de se estar perante um falso negativo (9, 10, 22, 24, 26, 36). Esta influência foi sobretudo observada em doentes do foro reumatológico submetidos a corticoterapia intensiva (doses superiores a 15 mg/dia de prednisolona por um período superior a um mês). Tamborenea *et al* descrevem ainda, além da associação da corticoterapia com resultados negativos no TST, uma maior prevalência de anergia nos doentes em tratamento com metotrexato numa dose média de 13 mg por semana (39). Embora a dose média seja comparável à realizada nos doentes psoriáticos deste estudo, o reduzido número de casos não permitiu a análise individual desta possível relação entre o tratamento imunossupressor e a prova tuberculínica.

No grupo de doentes a realizar terapêutica imunossupressora, verificou-se um maior número de resultados negativos em ambos os testes, assim como de resultados TST positivo/IGRA negativo. Estas observações, ainda que não possam ser valorizadas a nível

estatístico, parecem apontar para uma perda de sensibilidade de ambos os testes nos doentes com psoríase a realizar terapêutica imunossupressora com metotrexato e ciclosporina A.

A ausência de dependência entre os restantes fatores analisados e os resultados positivos em ambos os testes pode-se explicar tanto pela verdadeira independência entre estes ou pelo facto de estarmos perante uma amostra que pode não ser suficientemente grande para alcançar resultados estatisticamente significativos.

Partindo das hipóteses anteriores, o TST parece manter a sua viabilidade no rastreio da tuberculose latente, com uma sensibilidade aparentemente superior à do IGRA neste estudo. Embora seja referido que, em muitos casos, o IGRA apresenta uma sensibilidade superior (11, 18, 22, 25, 40, 41), outros estudos referem que o TST também pode ser relevante nas doenças inflamatórias autoimunes (8, 10, 24). No entanto, é importante ter em consideração que este é um teste sujeito a uma interpretação subjetiva, dependente da experiência do observador, e dos valores de *cut-off* definidos, que atualmente variam de país para país.

Perante as dúvidas existentes acerca do desempenho dos dois testes e continuando a não existir um *gold standard* para o diagnóstico da infeção latente, a maioria dos autores sugere que se deve manter a utilização dos dois testes nos doentes propostos para tratamento com anti-TNF- $\alpha$ , de modo a maximizar a sensibilidade do rastreio, estratégia que é apoiada pelo presente trabalho.

Várias foram as limitações que surgiram ao longo da realização deste estudo. Desde logo, a elaboração de um estudo retrospectivo dependeu da recolha de dados a partir dos processos clínicos, que muitas vezes estavam incompletos ou eram pouco legíveis. A impossibilidade de selecionar apenas participantes submetidos ao TST e IGRA em simultâneo foi igualmente uma condicionante, podendo os participantes não estar sob as mesmas condições a nível imunitário na data da realização de cada um dos testes.

## CONCLUSÃO

---

O presente estudo permite retirar algumas conclusões clinicamente relevantes para o rastreio de tuberculose latente em doentes com psoríase propostos para tratamento com anti-TNF- $\alpha$ . Os resultados encontrados sugerem um desempenho comparável do TST e do IGRA, embora com uma concordância moderada. Perante a inexistência de um *gold standard*, a estratégia mais sensível na deteção da infeção latente parece ser a utilização simultânea de ambos os testes, em associação a uma história clínica detalhada e uma radiografia do tórax.

A baixa prevalência de fatores de risco encontrada na amostra é concordante com a epidemiologia da tuberculose em Portugal, assim como a relação preditiva entre o aumento da idade e a maior frequência de resultados positivos no TST e no IGRA, já que provavelmente indicia uma maior exposição ao *M. tuberculosis*. A maior proporção de testes negativos em indivíduos sob terapêutica imunossupressora parece sugerir uma perda de sensibilidade de ambos os testes.

Tendo em consideração todos os constrangimentos associados à metodologia utilizada, a elaboração de um estudo prospetivo de maiores dimensões poderá permitir a confirmação dos resultados demonstrados e descrever novas associações com os testes. Sugerem-se igualmente entrevistas presenciais aos doentes, juntamente com a realização do TST, do IGRA e da radiografia torácica no mesmo dia.

## **AGRADECIMENTOS**

---

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora, Dr.<sup>a</sup> Esmeralda Neves, por toda a disponibilidade e ajuda prestadas ao longo da realização deste trabalho, assim como pela preocupação com todos os detalhes a ele associados, fundamental para que este empreendimento fosse bem sucedido.

É também essencial agradecer ao meu coorientador, Dr. Tiago Torres, por toda a ajuda prestada na seleção dos doentes e na consulta dos processos clínicos, assim como por todo o interesse demonstrado pelo trabalho.

Gostaria de dirigir igualmente uma palavra de agradecimento ao Professor Doutor Paulo Costa, por toda a ajuda prestada no que diz respeito à análise estatística dos dados recolhidos, e à Doutora Raquel Duarte, pelo auxílio na consulta dos processos clínicos e pela ajuda na interpretação dos resultados obtidos.

Por último, o meu muito obrigada aos meus pais pelo apoio incondicional que me prestaram em todas as etapas deste desafio.

## BIBLIOGRAFIA

---

1. Chaudhari U, Romano P, Mulcahy LD, Dooley LT, Baker DG, Gottlieb AB. Efficacy and safety of infliximab monotherapy for plaque-type psoriasis: a randomised trial. *Lancet*. 2001;357(9271):1842-7. Epub 2001/06/19.
2. Malaviya R, Sun Y, Tan JK, Wang A, Magliocco M, Yao M, et al. Etanercept induces apoptosis of dermal dendritic cells in psoriatic plaques of responding patients. *J Am Acad Dermatol*. 2006;55(4):590-7. Epub 2006/10/03.
3. Wallis RS, Broder MS, Wong JY, Hanson ME, Beenhouwer DO. Granulomatous infectious diseases associated with tumor necrosis factor antagonists. *Clin Infect Dis*. 2004;38(9):1261-5. Epub 2004/05/06.
4. Gomez-Reino JJ, Carmona L, Valverde VR, Mola EM, Montero MD. Treatment of rheumatoid arthritis with tumor necrosis factor inhibitors may predispose to significant increase in tuberculosis risk: a multicenter active-surveillance report. *Arthritis Rheum*. 2003;48(8):2122-7. Epub 2003/08/09.
5. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med*. 2001;345(15):1098-104. Epub 2001/10/13.
6. Kindler V, Sappino AP, Grau GE, Piguet PF, Vassalli P. The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell*. 1989;56(5):731-40. Epub 1989/03/10.
7. Carmona L, Gomez-Reino JJ, Rodriguez-Valverde V, Montero D, Pascual-Gomez E, Mola EM, et al. Effectiveness of recommendations to prevent reactivation of latent tuberculosis infection in patients treated with tumor necrosis factor antagonists. *Arthritis Rheum*. 2005;52(6):1766-72. Epub 2005/06/04.
8. Bartalesi F, Vicidomini S, Goletti D, Fiorelli C, Fiori G, Melchiorre D, et al. QuantiFERON-TB Gold and the TST are both useful for latent tuberculosis infection screening in autoimmune diseases. *Eur Respir J*. 2009;33(3):586-93. Epub 2008/12/03.
9. Bocchino M, Matarese A, Bellofiore B, Giacomelli P, Santoro G, Balato N, et al. Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of Mycobacterium tuberculosis infection in patient candidates for anti-TNF-alpha treatment. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2008;27(10):907-13. Epub 2008/05/13.
10. Greenberg JD, Reddy SM, Schloss SG, Kurucz OS, Bartlett SJ, Abramson SB, et al. Comparison of an in vitro tuberculosis interferon-gamma assay with delayed-type hypersensitivity testing for detection of latent Mycobacterium tuberculosis: a pilot study in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2008;35(5):770-5. Epub 2008/03/07.

11. Matulis G, Juni P, Villiger PM, Gadola SD. Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases: performance of a Mycobacterium tuberculosis antigen-specific interferon gamma assay. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(1):84-90. Epub 2007/07/24.
12. Vassilopoulos D, Stamoulis N, Hadziyannis E, Archimandritis AJ. Usefulness of enzyme-linked immunospot assay (Elispot) compared to tuberculin skin testing for latent tuberculosis screening in rheumatic patients scheduled for anti-tumor necrosis factor treatment. *J Rheumatol*. 2008;35(7):1271-6. Epub 2008/04/03.
13. Shovman O, Anouk M, Vinnitsky N, Arad U, Paran D, Litinsky I, et al. QuantiFERON-TB Gold in the identification of latent tuberculosis infection in rheumatoid arthritis: a pilot study. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009;13(11):1427-32. Epub 2009/10/29.
14. Doherty SD, Van Voorhees A, Lebwohl MG, Korman NJ, Young MS, Hsu S, et al. National Psoriasis Foundation consensus statement on screening for latent tuberculosis infection in patients with psoriasis treated with systemic and biologic agents. *J Am Acad Dermatol*. 2008;59(2):209-17. Epub 2008/05/20.
15. Keane J, Bresnihan B. Tuberculosis reactivation during immunosuppressive therapy in rheumatic diseases: diagnostic and therapeutic strategies. *Curr Opin Rheumatol*. 2008;20(4):443-9. Epub 2008/06/06.
16. Tissot F, Zanetti G, Francioli P, Zellweger JP, Zysset F. Influence of bacille Calmette-Guérin vaccination on size of tuberculin skin test reaction: to what size? *Clinical Infectious Diseases*. 2005;40(2):211-7.
17. Winthrop KL. Risk and prevention of tuberculosis and other serious opportunistic infections associated with the inhibition of tumor necrosis factor. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2006;2(11):602-10. Epub 2006/11/01.
18. Lalvani A, Millington KA. Screening for tuberculosis infection prior to initiation of anti-TNF therapy. *Autoimmun Rev*. 2008;8(2):147-52. Epub 2008/08/19.
19. Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med*. 2007;146(5):340-54. Epub 2007/03/07.
20. Pai M, Zwering A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med*. 2008;149(3):177-84. Epub 2008/07/03.
21. Ferrara G, Losi M, Meacci M, Meccugni B, Piro R, Roversi P, et al. Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(5):631-5. Epub 2005/06/18.
22. Ponce de Leon D, Acevedo-Vasquez E, Alvizuri S, Gutierrez C, Cucho M, Alfaro J, et al. Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of

- tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol.* 2008;35(5):776-81. Epub 2008/04/10.
23. Saúde D-Gd. Stop TB 2012 - Dia Mundial da Tuberculose. In: Tuberculose PNdLca, editor. Ponto da Situação Epidemiológica e de Desempenho: Direção-Geral da Saúde; 2012.
24. Casas S, Andreu A, Juanola X, Bordas X, Alcaide F, Moure R, et al. Diagnosis of tuberculosis infection by tuberculin skin test and a whole-blood interferon-gamma release assay in patients considered for anti-tumor necrosis factor-alpha therapy. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;71(1):57-65. Epub 2011/08/20.
25. Lima EDEA, Lima MDEA, De Lorena VMB, Gomes YDEM, Lupi O, Benard G. Evaluation of an IFN-gamma Assay in the Diagnosis of Latent Tuberculosis in Patients with Psoriasis in a Highly Endemic Setting. *Acta Derm Venereol.* 2011;91:694-7.
26. Sauzullo I, Mengoni F, Scrivo R, Valesini G, Potenza C, Skroza N, et al. Evaluation of QuantiFERON-TB Gold In-Tube in human immunodeficiency virus infection and in patient candidates for anti-tumour necrosis factor-alpha treatment. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2010;14(7):834-40. Epub 2010/06/17.
27. Tsiouri G, Gaitanis G, Kiropelidou D, Dionysiou A, Efthymiou A, Daskalopoulos G, et al. Tuberculin skin test overestimates tuberculosis hypersensitivity in adult patients with psoriasis. *Dermatology.* 2009;219(2):119-25. Epub 2009/05/30.
28. Krueger GG, Hill HR, Jederberg WW. Inflammatory and immune cell function in psoriasis--a subtle disorder I. In vivo and in vitro survey. *J Invest Dermatol.* 1978;71(3):189-94. Epub 1978/09/01.
29. Kapp A, Gillitzer R, Kirchner H, Schopf E. Decreased production of interferon in whole blood cultures derived from patients with psoriasis. *J Invest Dermatol.* 1988;90(4):511-4. Epub 1988/04/01.
30. Dogan B, Harmanyeri Y. Intradermal antigen tests and the Koebner phenomenon in psoriasis. *International journal of dermatology.* 1997;36(4):263-5. Epub 1997/04/01.
31. Lindholm L, Magnusson BL, Mobacken H. Depressed non-specific lymphocyte reactivity in psoriasis. *Archives of dermatological research.* 1978;263(2):121-5. Epub 1978/11/10.
32. Infopédia. Programa Nacional de Vacinação (PNV). Porto: Porto Editora; 2012 [2012-06-05]; Available from: [http://www.infopedia.pt/\\$programa-nacional-de-vacinacao-\(pnv\)](http://www.infopedia.pt/$programa-nacional-de-vacinacao-(pnv)).
33. Inanc N, Aydin SZ, Karakurt S, Atagunduz P, Yavuz S, Direskeneli H. Agreement between Quantiferon-TB gold test and tuberculin skin test in the identification of latent tuberculosis infection in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 2009;36(12):2675-81. Epub 2009/11/18.
34. Wang L, Turner MO, Elwood RK, Schulzer M, FitzGerald JM. A meta-analysis of the effect of Bacille Calmette Guerin vaccination on tuberculin skin test measurements. *Thorax.* 2002;57(9):804-9. Epub 2002/08/30.

35. Farhat M, Greenaway C, Pai M, Menzies D. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria? *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006;10(11):1192-204.
36. Laffitte E, Janssens JP, Roux-Lombard P, Thielen AM, Barde C, Marazza G, et al. Tuberculosis screening in patients with psoriasis before antitumour necrosis factor therapy: comparison of an interferon-gamma release assay vs. tuberculin skin test. *The British journal of dermatology.* 2009;161(4):797-800. Epub 2009/08/08.
37. Malaviya AN, Kapoor S, Garg S, Rawat R, Shankar S, Nagpal S, et al. Preventing tuberculosis flare in patients with inflammatory rheumatic diseases receiving tumor necrosis factor-alpha inhibitors in India -- An audit report. *J Rheumatol.* 2009;36(7):1414-20. Epub 2009/06/03.
38. Kobashi Y, Mouri K, Obase Y, Fukuda M, Miyashita N, Oka M. Clinical evaluation of QuantiFERON TB-2G test for immunocompromised patients. *Eur Respir J.* 2007;30(5):945-50. Epub 2007/07/27.
39. Tamborenea MN, Tate G, Mysler E, Debonis J, Schijedman A. Prevalence of positive ppd in a cohort of rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int.* 2010;30(5):613-6. Epub 2009/07/07.
40. Sellam J, Hamdi H, Roy C, Baron G, Lemann M, Puechal X, et al. Comparison of in vitro-specific blood tests with tuberculin skin test for diagnosis of latent tuberculosis before anti-TNF therapy. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(12):1610-5. Epub 2007/04/26.
41. Murakami S, Takeno M, Kirino Y, Kobayashi M, Watanabe R, Kudo M, et al. Screening of tuberculosis by interferon-gamma assay before biologic therapy for rheumatoid arthritis. Tuberculosis (Edinburgh, Scotland). 2009;89(2):136-41. Epub 2009/02/13.