

# SEMNIFICAȚIA CLINICĂ A TESTELOR DE DIAGNOSTIC AL INFECȚIEI TUBERCULOASE ÎN DIAGNOSTICUL TUBERCULOZEI LA COPIII ȘI ADOLESCENȚII CU INFECȚIE HIV-1

*The clinical significance of the tests for diagnosis of tuberculous infection for the diagnosis of tuberculosis in HIV-infected children and adolescents*

**Dr. Luminița Ene<sup>1</sup>, Dr. Henriette Stavri<sup>2</sup>, Dr. Olimpia Nicolaescu<sup>1</sup>,  
Dr. Gheorghe Murgoci<sup>3</sup>, Dr. Tatiana Biolan<sup>1</sup>, Dr. Maria Nica<sup>1</sup>,  
Dr. Nedeea Dută-Borina<sup>1</sup>, Dr. Mircea Popa<sup>4</sup>,  
Dr. Gabriela Loredana Popa<sup>4</sup>, Dr. Dan Duiculescu<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș“, București

<sup>2</sup>Institutul Național de Cercetare „Cantacuzino“ Microbiologie și Imunologie –  
Departamentul de Antigene Micobacteriene

<sup>3</sup>Institutul Național de Pneumoftiziologie „Marius Nasta“, București

<sup>4</sup>Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila“, București

## REZUMAT

Diagnosticul tuberculozei la copiii și adolescenții cu infecție HIV-1 reprezintă o problemă actuală mai ales în zonele cu endemicitate medie și crescută a tuberculozei. În acest context ne-am propus stabilirea ratei de pozitivare a froturilor și culturilor pentru bK și a utilității tehnicilor de diagnostic rapid al tuberculozei latente în stabilirea diagnosticului de tuberculoză. Tuberculoza diagnosticată clinic și radiologic a fost confirmată prin examen direct la 45% dintre copii și adolescenți și prin cultură la 61%. Testele de diagnostic al tuberculozei latente (IDR și QuantiferonTB Gold) au demonstrat o sensibilitate și specificitate bună doar pentru pacienții cu confirmare bacteriologică și cei fără imunodepresie severă. Deși la grupul de adolescenți cu infecție HIV rata de confirmare bacteriologică a fost dublă față de populația pediatrică, diagnosticul de tuberculoză la pacienții cu imunodepresie severă rămâne o provocare, fiind necesară îmbunătățirea tehnicilor de diagnostic.

**Cuvinte cheie:** HIV, tuberculoză, QuantiferonTB Gold, IDR, ELISA TB

## ABSTRACT

The diagnosis of tuberculosis in HIV-1 infected children and adolescents represents an important problem, especially in areas with high and medium endemicity of tuberculosis. In this circumstances, we aimed to establish the rate of sputum-smear positive and bacteriological confirmation of tuberculosis and of the usefulness of latent tuberculosis diagnosis techniques in establishing the diagnosis of tuberculosis. Clinical and radiological tuberculosis was confirmed by positive acid-fast bacilli smear in 45% of children adolescents and by culture in 61%. The tests for diagnosis of latent tuberculosis (TST and QuantiferonTB Gold) had demonstrated a good sensitivity and specificity only in patients with confirmed tuberculosis and in those without severe immune suppression. Although in HIV-infected adolescents the rate of bacteriological confirmation was double compared to the pediatric group, the diagnosis of tuberculosis in patients with severe immune suppression remains challenging, an improvement of diagnosis techniques is mandatory.

**Key words:** HIV, tuberculosis, QuantiferonTB Gold, TST, Elisa TB

Adresa de corespondență:

Dr. Dan Duiculescu, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș“, Șos. Mihai Bravu, Nr. 281, Sector 3, București,  
Cod 030303

email: danduculescu@yahoo.com

## IMPORTANȚA PROBLEMEI

Stabilirea diagnosticului de tuberculoză (TB) la copii ridică probleme suplimentare, pentru că spre deosebire de adulți, confirmarea bacteriologică este mai dificilă (1). Diagnosticul TB la copiii cu infecție HIV este și mai dificil și deseori tardiv, deoarece din cauza imunodepresiei, manifestările clinice și radiologice sunt nespecifice. În același timp însă, terapia se impune de urgență deoarece mortalitatea în cazul pacienților cu coinfecție HIV/TB este de două ori mai mare, comparativ cu cea a pacienților cu infecție HIV fără TB, indiferent de nivelul CD4<sup>+</sup> (2).

În plus, întrucât pacienții HIV pozitivi prezintă frecvent pneumonii recurente și cu alți germeni patogeni, trebuie să se aibă întotdeauna în vedere că la acești pacienți prezența simptomelor respiratorii asociate cu anomalii radiologice nu presupune obligatoriu existența unei TB pulmonare. Diagnosticul de TB pulmonară trebuie să se pună și în aceste cazuri pe criterii la fel de riguroase ca și în cazul pacienților sero-negativi.

În România, sunt în evidență un număr de 9.757 copii cu infecție HIV-1, dintre care 7.653 diagnosticați cu SIDA (conform datelor Comisiei Naționale de Luptă anti-SIDA (3)). Adolescenții reprezintă un grup special, cu câteva caracteristici comune: aceeași perioadă probabilă a infecției (1987-1990) și același subtip de HIV (F1). În prezent, acești copii prezintă de circa 18 ani infecție cronică HIV și majoritatea au fost expuși la terapie antiretrovirală înalt activă (HAART) timp de aproape 10 ani.

Cazuistica secției a 5-a clinică din cadrul Spitalului de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș” (4), în care au fost supravegheați începând din 1989 până în 2005 un număr total de 1.643 de copii cu infecție HIV, include 539 pacienți cu tuberculoză (460 pacienți cu TB pulmonară și 79 cu TB extrapulmonară). Rata cazurilor de TB cu confirmare bacteriologică a fost de 26,1%. Dintre cele 141 prelevate confirmate prin culturi 40% au fost din lavaj gastric, 33% din spută, 12% din hemocuturi, 3% prin biopsie și 2% din lichidul pleural. Pornind de la aceste observații clinice, se constată prevalența crescută a TB în rândul pacienților cu infecție HIV, care poate fi interpretată ca fiind concordantă cu incidența crescută a TB în România (110,1<sup>0</sup>/<sub>0000</sub> în 2007) (5).

În acest context, se impune necesitatea de a găsi metode de depistare și de diagnostic rapide, fiabile, care să permită instituirea rapidă a tratamentului. Diagnosticul bacteriologic este facilitat

de aspiratul bronșic și lavajul bronhioloalveolar, obținute prin fibrobronhoscopie. Deoarece metoda clasică de cultivare pe medii solide aduce confirmarea tardivă a diagnosticului, sunt de preferat metodele moderne de izolare a germeilor pe medii lichide și detectarea lor radio-colorimetrică, precum și tehnologiile bazate pe genetica micobacteriilor (PCR, sonde moleculare etc.) (6). Fibrobronhoscopia este însă o metodă invazivă, grevată de unele contraindicații și complicații, iar metodele moderne de izolare a micobacteriilor sunt scumpe și greu de realizat în afara unor clinici înalt specializate.

În prezent, pentru controlul TB se caută o serie de metode prin care să se evidențieze persoanele cu infecție latentă cu *M. tuberculosis* și risc crescut de progresie către boala activă (7). Indicațiile terapiei în infecția latentă sunt o problemă mult dezbătută în literatura de specialitate, Programele Naționale de Control al TB interpretând-o diferențiat de la o țară la alta, în funcție de profilul epidemiologic.

Intradermoreacția la tuberculină (IDR), care pune în evidență hipersensibilitatea (HS) de tip întârziat, reprezintă un test de diagnostic rapid, cu valoare orientativă, recomandat la copii (8), dar este deseori negativ la copiii cu infecție HIV și imunodepresie severă (9, 10). Unii autori consideră ca o altă limită specificitatea redusă a IDR în populația vaccinată cu BCG și respectiv sensibilitatea redusă la persoanele cu imunosupresie, care au risc crescut de progresie către TB activă (11). În conformitate cu Programul Național de Imunizare (PNI), în România, toți nou-născuții sunt vaccinați cu BCG la naștere.

Determinările serologice care pun în evidență anticorpii antimicobacterieni pot reprezenta o metodă utilă și ieftină în orientarea către diagnosticul de infecție TB, mai ales pentru copii, la care prelevarea sputei este dificilă (12-15). Tehnicile bazate pe răspunsul imun la *M. tuberculosis* au avantajul că nu depind de detecția micobacteriei (16, 17). Rămâne însă întrebarea pentru clinician: în ce măsură pozitivitatea unui asemenea test permite începerea tratamentului?

*In vitro*, interferon-gamma (IFN-gamma) release assays (IGRA), care măsoară producția de interferon gamma de către celulele T incubate cu antigen specific de *Mycobacterium tuberculosis* (cum ar fi T-SPOT TB sau QuantiFERON-TB Gold) s-au dovedit alternative noi la TST pentru diagnosticul infecției latente cu *M. tuberculosis*, mai ales la copii (11, 18-20). Aceste teste, care s-au dovedit a avea o specificitate mai mare decât IDR (21), pentru că

nu au reactivitate încrucișată cu BCG și cu majoritatea mycobacteriilor non-TB, au fost evaluate însă în țările dezvoltate, cu incidența redusă a tuberculozei și cu un profil epidemiologic al TB total diferit față de România. Există puține date despre eficiența lor la copiii cu sau fără infecție HIV (22-24) din zonele cu prevalență crescută a TB. Rămân o serie de întrebări legate de sensibilitatea IGRA la copiii cu imunosupresie și despre valoarea lor predictivă și interpretarea modificărilor acestora în timp (25).

Având în vedere dificultățile legate de evidențierea TB la copiii cu infecție HIV-1, ne-am propus evaluarea concordanței dintre metodele considerate clasice de diagnostic (rata de pozitivare a culturilor bK, diagnosticul clinic și radiologic) și 3 metode rapide de evidențiere a infecției TB, dintre care primele două fiind moderne: 1) QuantiFERON-TB Gold (QFT-G); 2) *enzyme linked-immunosorbent serologic assay* (ELISA) pentru antigen de *M. tuberculosis* și 3) IDR la 2u PPD. Pacienții incluși în studiu au fost împărțiți în 3 loturi: cu infecție HIV și TB (HIV+TB+), cu infecție HIV fără TB (HIV+TB-) și cu TB și fără infecție HIV (HIV-TB+). Toate datele au fost prelucrate statistic, iar scopul final al studiului a fost de apreciere a utilității acestor teste în practica medicală curentă.

## PACIENȚI ȘI METODE

Au fost evaluați 111 copii și adolescenți, selecționați pentru a participa la Programul Național de Excelență al Ministerului Educației și Cercetării – CEEEX Nr. 35/2005 „Metoda imunoenzimatică de diagnostic serologic multiplu al infecțiilor cu mycobacterii netuberculoase la bolnavii imuno-competenți și imunosupresați ELISA neTB” finanțat de Academia de Științe Medicale și Ministerul Educației și Cercetării, în perioada septembrie 2005-septembrie 2008. Au fost recrutați 95 de pacienți cu infecție HIV: 76 din Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș” București (SVB) și 16 din Institutul Național de Pneumologie „Marius Nasta” (IMN). De asemenea, au fost recrutați 16 pacienți cu TB și fără infecție HIV de la IMN pentru compararea tehnicilor de diagnostic rapid al TB.

Protocolul de evaluare a inclus: date personale și de identificare ale pacientului, data internării, data emiterii suspiciunii clinice de infecție cu mycobacterii, date epidemiologice, antecedente personale și heredo-colaterale semnificative, stadializarea infecției HIV și evaluarea imunologică

și virusologică a HIV la momentul includerii în studiu, datele clinice și paraclinice pe baza cărora s-a emis suspiciunea de infecție cu mycobacterii, precum și organul/organele afectate, data recoltării și tipul prelevatelor biologice pentru examenul microbiologic și/sau histologic și/sau de biologie moleculară și data recoltării serului pentru testele de diagnostic rapid și data efectuării IDR. IDR a fost efectuat după prelevarea de sânge pentru QFG.

Probele bacteriologice prelevate de la pacienți au fost recoltate în condiții standard în primele zile după internarea în spital, înainte de începerea terapiei. Serurile pentru QFG și ELISA TB au fost colectate concomitent cu probele bacteriologice.

Diagnosticul bacteriologic al tuberculozei s-a făcut din următoarele produse, recoltate de la pacienți: spută matinală spontană, spută provocată, aspirate bronșice, LCR și alte lichide de puncție (pleural, peritoneal etc.), suc gastric, urină, sânge, secreții din colecții profunde (ganglion, abcese etc.) și superficiale, materii fecale. Diagnosticul micobacteriologic s-a efectuat la majoritatea pacienților prin metodele clasice, frotiu și culturi. După prelucrarea corespunzătoare a produsului s-a efectuat examen microscopic pe frotiu colorat Ziehl-Neelsen preparat prin tehnica Petroff modificată și culturi pe mediu Lowenstein-Jensen. Identificarea s-a făcut prin metodele micobacteriologiei clasice, iar testarea sensibilității la medicamentele anti-TB s-a efectuat prin metoda concentrațiilor absolute și metoda proporțiilor. Tehnicile moderne utilizate au fost sistemul automat BacT/ALERT și MB/BACT.

## DETERMINĂRILE SEROLOGICE

Interferon gamma ( $\gamma$ ) release assay (QFG) a fost efectuat la 49 din 95 pacienți cu infecție HIV și la toți cei 16 pacienți HIV-TB+. Interpretarea rezultatelor QFG a fost făcută pe baza concentrațiilor IFN- $\gamma$  din probe. Un rezultat pozitiv (infecție posibilă cu *M. tuberculosis*) a fost definit ca = 0.35 IU/ml și > 50% nil, pentru ESAT-6 nil (concentrațiile IFN- $\gamma$  în sânge integral cu un amestec peptide sintetice stimulând ESAT-6) sau CFP-10 nil (concentrațiile IFN- $\gamma$  în sânge integral cu un amestec peptide sintetice stimulând CFP-10), sau ambele. Un rezultat negativ (infecție cu *M. tuberculosis* improbabilă), a fost definit ca < 0.35 IU/ml. Un rezultat indeterminat (QFT-G nu poate fi interpretat), a fost definit ca < 0.35 IU/ml cu mitogen nil < 0.5 (neinterpretabil ca urmare a unui raspuns redus al mitogenului) sau = 50% peste nil

(neinterpretabil din cauza unui răspuns de fond prea mare) (26).

ELISA BK este o metoda imunoenzimatică „in-house“ pusă la punct de către Institutul Național de Cercetare Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie (INCDMI) „Cantacuzino“, utilizând antigene glicopeptidice izolate din *M. tuberculosis* H37Rv (14).

IDR la tuberculină (IDR): 0.1 ml tuberculină PPD (Romanian PPD IC-65, 2 TU), au fost injectați intradermic în a 2/3 a antebrațului drept, iar diametrul de indurație a fost citit la 72 h. Rezultatul testului a fost citit de personal calificat, în concordanță cu ghidurile OMS (8), o indurație de 5 mm fiind considerată pozitivă la pacienții cu infecție HIV.

Împărțirea pe loturi și categorii a pacienților a fost făcută ținându-se seama de definiția OMS a cazului de TB, conform căreia cazul de TB este bolnavul cu TB confirmată bacteriologic sau histopatologic, dar și bolnavul care nu are confirmare, dar la care medicul pneumolog are suficiente date clinice și paraclinice pentru a decide începerea tratamentului anti-TB.

Formele de TB au fost clasificate într-o primă etapă în funcție de localizare în: TB pulmonară, extrapulmonară și mixtă. Pentru TB pulmonară s-a utilizat criteriul clasic și general acceptat de clasificare în funcție de momentul infectant. Conform acestui criteriu am încadrat bolnavii ca TB primară, TB secundară și TB primo-secundară. Pentru aprecierea gravității TB pulmonare, bolnavii au fost studiați pe criterii bacteriologice (bK M+C+, bK M-C+, bK M-C-) și radiologice (adenopatie, infiltrat, cavernă, forme severe de TB la copii). Pleurezia TB s-a înregistrat fie ca leziune unică, izolată, fie a însoțit leziunile parenchimatose.

Pentru compararea rezultatelor testelor rapide de diagnostic al TB, pacienții au fost împărțiți în 4 categorii: pacienți cu infecție HIV și TB cu confirmare bacteriologică (HIV+TB+BK+), pacienți cu infecție HIV și TB fără confirmare bacteriologică (HIV+TB+BK-) la care diagnosticul de TB s-a stabilit de către pneumolog în baza datelor epidemiologice, clinice, radiologice și/sau histopatologice, al 3-lea grup de pacienți cu infecție HIV fără TB (HIV+TB-) și un al 4-lea grup de pacienți cu TB și fără infecție HIV (HIV-TB+). Analiza separată a datelor celui de al 2-lea grup a fost justificată în context clinic, având în vedere dificultățile de diagnostic ale TB la copii prin numărul redus de rezultate bacteriologice pozitive (27).

## ANALIZA STATISTICĂ

Analiza rezultatelor a fost făcută cu Medcalc version 9.5.1.0 software. S-a folosit transformarea log10 a tuturor valorilor ARN HIV-1. Corelația a fost utilizată pentru a compara parametrii, analiza frecvenței s-a făcut cu chi test și Fisher exact test pentru loturi mai mici. Diferența între două variabile a fost evaluată cu Mann-Whitney test (la grupuri cu distribuție anormală) și respectiv t-test (la grupuri cu distribuție normală).

Sensibilitatea testelor a fost calculată ca fiind raportul dintre probele real pozitive și suma testelor real pozitive și fals negative, fără a fi luate în calcul rezultatele indeterminate.

Specificitatea a fost calculată prin raportul între numărul probelor adevărat negative și suma între numărul probelor adevărat negative și a celor fals pozitive.

Valoarea pozitivă predictivă a fost calculată ca fiind proporția pacienților cu rezultate pozitive care sunt diagnosticați corect.

Valoarea negativă predictivă a fost calculată ca fiind proporția de pacienți cu rezultate negative care sunt corect diagnosticați.

Acordul între determinările sensibilității și specificității a fost estimat prin coeficientul Kappa, cu următoarele interpretări: 0.21-0.40 = acord rezonabil, 0.41-0.60 = acord moderat, 0.61-0.80 = acord bun, 0.81-1 = acord foarte bun.

## REZULTATE

Pe parcursul studiului au fost recrutați 111 pacienți dintre care 95 cu infecție HIV-1 și suspiciune de infecții cu mycobacterii sau afectare respiratorie și 16 pacienți cu TB și fără infecție HIV. Caracteristicile generale ale pacienților recrutați împărțiți în cele 4 grupe diagnostice sunt prezentate în tabelul 1. Pacienții cu infecție HIV împărțiți în cele 3 grupe au avut o repartiție omogenă din punct de vedere al vârstei, sexului, modului de transmitere al infecției HIV. Mediana vârstei la grupul de copii HIV-TB+ a fost semnificativ mai mică decât mediana vârstei oricăreia dintre cele 3 grupe de pacienți cu infecție HIV-1 ( $p < 0.001$ ).

Rata de confirmare bacteriologică a TB a fost de 61,3% (38/62) în rândul pacienților cu infecție HIV-1, în timp ce confirmarea bacteriologică la copiii fără infecție HIV a fost de 37,5% (6 din 16). La pacienții cu infecție HIV cu confirmare bacteriologică (culturi pozitive), examenul direct a fost negativ la 10 din 38 de pacienți (26,3%), iar microscopia a fost pozitivă la toți pacienții fără

**Tabelul 1.** Caracteristici generale ale pacienților

		HIV+TB+bK +	HIV+TB+ bK -	HIV+TB -	HIV- TB+
Număr		38	24	33	17
Raport fete/băieți		18/20	14/10	16/17	8/8
Vârsta	Mediana (limite) ani	17.4 (1.1-21)	17 (0.3-20.9)	19 (16-21)	11 (3-16)
Caracteristici ale infecției HIV	Cale de transmitere	Parenterală	35	17	33
		verticală	3	6	0
		heterosexuală	0	1	0
	Clasificare imunologică	1	2	3	14
		2	11	6	9
3		24	15	10	
CD4 l/mm <sup>3</sup> mediană (limite)		130 (2-1006)	157.5 (5-2111)	461 (11-1095)	
ARN HIV mediană Copii/ml (log <sub>10</sub> )		5.27 (2.6-6.77) N=29	5.18 (2.6-6.79) N=18	2.60 (1.69-5.88) N=32	
Tratament ARV la momentul dg. TB	Eșec	6	6	2	
	Eficient	2	3	21	
Fără tratament antiretroviral	Fără date despre trat ARV	9	7		
	Intrerupt din proprie inițiativă	15	4	6	
Forme clinice TB	Pulmonară	Primară	5	8	8
		Primo-secundară	4	2	0
		Secundară	19	10	6
	Extrapulmonară		5	3	1
	Mixtă		5	1	1
IDR pozitiv	Nr. pacienți cu valori pozitive/nr. pacienți testați	13/29	3/15	8/30	15/16
ELISA BK pozitiv	Nr. pacienți cu valori pozitive/nr. pacienți testați	4/28	3/16	4/31	-
QFG pozitiv	Nr. pacienți cu valori pozitive/nr. pacienți testați Nr. pacienți cu valori indeterminate	14/19 5 indeterminat	0/7 4 indeterminat	4/12 1 indeterminat	16/16

infecție HIV cu confirmare bacteriologică. Nu au existat cazuri de pacienți cu microscopie pozitivă și fără culturi bK. Principalele prelevate analizate au fost sputa și lavajul gastric (la 24 și 8 pacienți din grupul cu confirmare bacteriologică, la 17 și 4 din grupul fără confirmare bacteriologică și la 7 și 6 pacienți din grupul HIV negativ). La 8 pacienți, dintre care 6 cu confirmare bacteriologică, pentru stabilirea diagnosticului de TB s-a efectuat lavaj bronho-alveolar.

Așa cum reiese din tabelul 1, au predominat formele de TB pulmonară la toate cele 3 grupe de pacienți. Cei mai mulți pacienți cu infecție HIV și confirmare bacteriologică (19) au avut forme secundare de TB, iar la pacienții cu infecție HIV fără confirmare bacteriologică formele primară și secundară au fost relativ egal distribuite. Particular pentru pacienții cu infecție HIV este coexistența leziunii marker de TB primară (adenopatia) cu

leziunile caracteristice TB secundare (variate tipuri de infiltrate, leziuni cavitare); am încadrat această asociere ca TB primo-secundară. Copiii fără infecție HIV au avut în majoritatea cazurilor forme primare de TB. Localizările extrapulmonare au fost în majoritatea cazurilor ganglionare. Pacienții cu TB mixtă au avut determinări pulmonare asociate cu determinări intestinale, serozită și meningeale.

În tabelul 2 sunt prezentate formele radiologice, în funcție de gravitate la pacienții cu determinări pulmonare din cele 3 grupe. Cei mai mulți pacienți cu confirmare bacteriologică au avut forme severe de TB, iar pacienții fără confirmare bacteriologică au avut forme medii de TB.

Subliniem încă o dată ca fiind particular copiilor infectați cu HIV asocierea adenopatiei, fie cu leziuni parenchimotoase limitate (infiltrate), fie cu leziuni extinse de tip bronhopneumonic. Tuberculomul,

**Tabelul 2.** Formele radiologice de tuberculoză pulmonară clasificate în funcție de gravitate la pacienții cu infecție HIV cu și fără confirmare bacteriologică și la pacienții fără infecție HIV

Gravitate	Forma radiologică	HIV+TB+BK +	HIV+TB+ BK -	HIV-	Total
Moderate	adenopatie	7	9	9	25
	adenopatie + leziuni parenchimotoase limitate	3	1	0	4
	infiltrat	4	3	0	7
	pleurezie ca unică localizare	1	2	1	4
% pacienți cu afectare pulmonară		45,5%	68,2%	66,6%	30
Severe	adenopatie + leziuni parenchimotoase extinse	0	1	0	1
	bronho-pneumonie TB	3	2	1	6
	Miliară TB	3	1	0	3
	pleurezie + leziuni parenchimotoase	1	0	0	1
	cavernă	10	2	4	16
Particular	tuberculom	1	1	0	2
% pacienți cu afectare pulmonară		54,5%	31,8%	33,3%	29

**Tabelul 3.** Caracteristici ale pacienților cu forme clinio-radiologice moderate și severe, aspecte imunologice și rezultatele testelor de diagnostic

Severitate forme radiologice TB	Nr. pacienți	Vârsta mediană pacienți	Fr. ZN +	Culturi BK	Mediana CD4 (lf/mmc)	ARN HIV mediana (log10 c/ml)	QFG	IDR	ELISA
Moderate la grup pacienți HIV+	30	17	8	15	130	5.32	4/11* 6 indeterminat	9/24*	4/23
Severe la grup pacienți HIV+	25	17.6	17	18	152.5	5.37	9/13* 3 indeterminat	8/16*	4/15
Medii pacienți HIV-	9	10	1	1	-	-	9/9	9/9	-
Severe pacienți HIV-	6	14,5	5	5	-	-	6/6	6/6	-

\*Fisher exact test= ns

forma pseudotumorală de TB a fost descris pentru 2 bolnavi, iar pentru unul dintre pacienți TB pulmonară a fost diagnosticată în cadrul sindromului inflamator de reconstituire imună (IRIS). Este vorba de un adolescent de 17 ani recent diagnosticat cu infecție HIV cu imunodepresie severă, la care la examenul radiologic efectuat în dinamică s-a înregistrat apariția la interval de o lună, imediat după introducerea tratamentului anti-TB, a unei adenopatii hilare drepte, concomitent cu apariția unei simptomatologii de impregnare sugestive pentru TB. Având în vedere că aceste modificări clinice și radiologice au survenit la o lună după introducerea HAART, care a determinat o scădere dramatică a ARN HIV de la 244000 c/ml la valori sub limita de detecție s-a ridicat suspiciunea apari-

ției unei TB pulmonare în cadrul IRIS. Evaluarea bacteriologică la acest pacient a fost negativă, putând reprezenta un argument în plus în susținerea diagnosticului de IRIS-TB.

Tipul de micobacterie a fost determinat la 13 pacienți – toți cu varianta *hominis*. Nu a existat nici o suspiciune de TB cu *M. bovis*.

În tabelul 3 sunt sintetizate caracteristicile pacienților cu forme medii și severe de TB și rezultatele testelor de diagnostic rapid al TB. Nu au existat diferențe statistice semnificative în funcție de vârstă, gradul de imunodepresie, forma clinică de boală. De asemenea, nu a existat o diferență semnificativă între numărul de teste pozitive QFG, IDR sau ELISA în rândul pacienților cu infecție HIV.

La pacienții cu infecție HIV am avut în vedere analiza impactului infecției HIV asupra infecției TB. Așa cum reiese din tabelul 1, majoritatea pacienților au avut o cale parenterală de transmitere a infecției HIV, fiind cel mai probabil infectați în primii ani de viață.

Au fost 9 copii cu transmitere verticală a infecției HIV. În cadrul acestui grup, media de vârstă a fost de 9 ani (limite 0,3-14 ani) cu raport fete/băieți de 4/5, comparabil din punct de vedere al vârstei și sexului cu grupul de pacienți HIV-TB+. Astfel, la grupul de pacienți cu transmitere parenterală a HIV, 3 din 9 au avut confirmare bacteriologică comparativ cu 6 din 16 copii din grupul HIV-TB+ ( $p = \text{NS}$ ). Raportul pacienților cu forme primare și secundare de TB a fost de 5/4 în grupul cu TB și infecție HIV transmisă parenteral și de 10/6 pentru grupul HIV-TB+ ( $p = \text{ns}$ ), fără a exista un risc relativ crescut de a avea mai ales forme primare de TB în cadrul HIV- ( $\text{RR} = 0.88$ ,  $95\% \text{CI} = 0.44-1.78$ ,  $P = \text{NS}$ ). În cadrul grupului de copii cu transmitere parenterală a infecției HIV au fost 4 cu imunodepresie severă, conform criteriilor CDC. Evaluarea testelor rapide de diagnostic la grupul cu infecție HIV transmisă parenteral: IDR pozitiv la 3 din 6 copii testați, serologie ELISA pozitivă la 2 din 4 copii testați și QFG pozitiv la 0 din 5 copii testați (2 probe indeterminate și 3 negative).

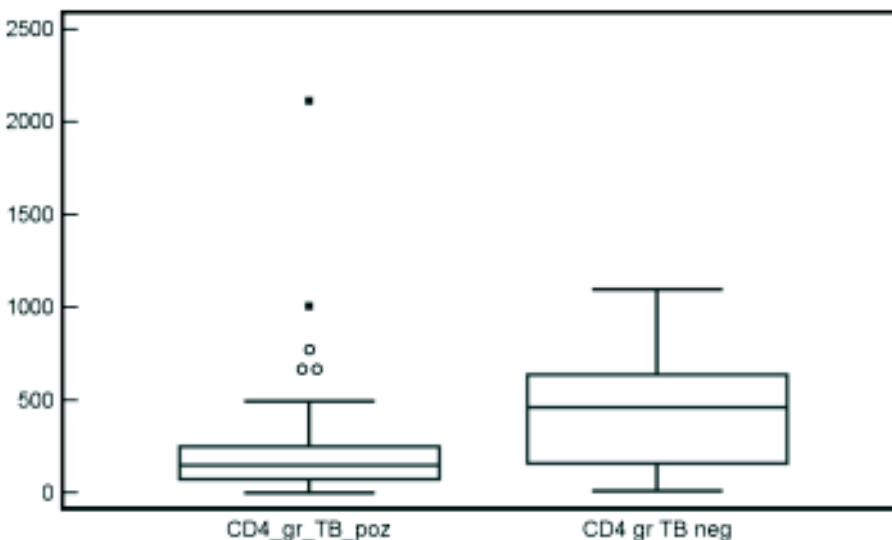
Evaluarea în cadrul întregului grup de copii cu infecție HIV a markerilor infecției HIV, indică faptul ca pacienții cu TB (confirmată sau nu bacteriologic) au avut o imunodepresie mai severă comparativ cu pacienții fără TB (figura 1). Se constată o diferență semnificativă statistic  $p < 0.001$

între nivelurile mediane ale CD4 la pacienții cu BK pozitiv (150 lf/mmc) comparativ cu grupul de pacienți fără TB (461lf/mmc).

De asemenea, s-a constatat existența unei diferențe semnificative,  $p < 0.0001$  între nivelurile mediane ARN HIV la pacienții cu TB (5.26 c/ml) comparativ cu cei fără TB (2.6 c/ml) fig 2. Riscul pacienților cu niveluri detectabile ale ARN HIV de a dezvolta TB este de 6.9 ori mai mare ( $95\% \text{CI} = 2.3-20.7$ ,  $p < 0.001$ ), comparativ cu al pacienților cu niveluri nedetectabile ale ARN HIV. În general, pacienții cu o bună complianță la terapia anti-retrovirală au fost mai puțin susceptibili a dezvolta tuberculoză comparativ cu cei non-complianți.

Pacienții cu imunodepresie severă ( $\text{CD4} < 200$  lf/mmc) au un risc de 1.63 ( $95\% \text{CI} = 1.17-2.26$ ,  $p < 0.05$ ) sau mai mare de a face TB, comparativ cu pacienții fără imunodepresie severă ( $\text{CD4} > 200$  lf/mmc).

Nu au existat date pentru toți pacienții pentru determinarea contactilor TB, existând doar 2 contacti cunoscuți pentru grupul de pacienți cu infecție HIV și TB (din 46 pacienți evaluați în acest sens). De asemenea, s-au decelat episoade de TB în antecedentele personale a 24 din 79 copii evaluați dintre care 5 din 29 din grupul HIV+TB+BK+ și 5 din 17 din grupul HIV+TB+BK- 14 din 33 din grupul HIV+TB-. Analiza datelor disponibile indică faptul că existența antecedentelor personale de TB nu a reprezentat un risc pentru apariția TB la grupul de pacienți studiați ( $\text{RR} = 0.63$ ,  $95\% \text{CI} = 0.38-1.06$ ,  $p = 0.08$ ).



**Figura 1.** Comparație între nivelul CD4+ la copiii cu tuberculoză și cei fără tuberculoză



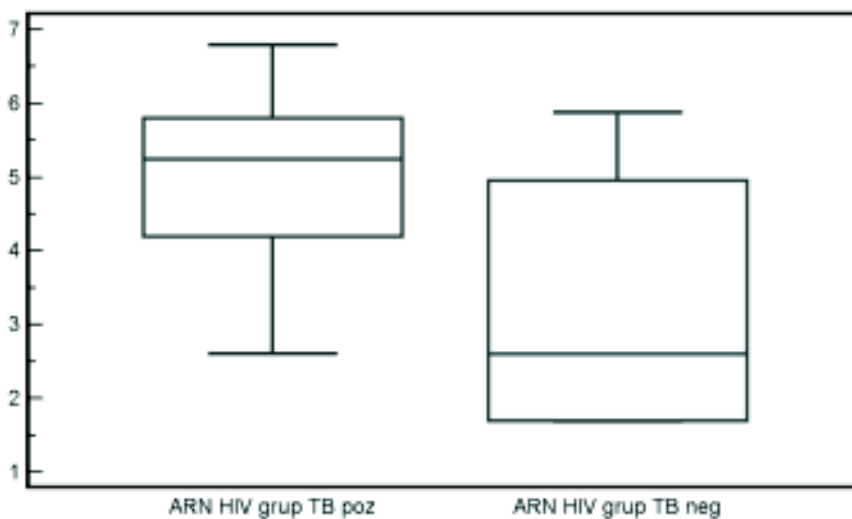


Figura 2. Nivelurile ARN HIV la grupul de pacienți cu tuberculoză BK pozitiv, BK negativ și la cei fără tuberculoză

## ANALIZA DATELOR LEGATE DE TESTELE DE DIAGNOSTIC RAPID

Rezultatele legate de evaluarea sensibilității și specificității celor 3 tipuri de analize de diagnostic rapid sunt prezentate în tabelul 4. Au fost evaluați pacienții cu infecție HIV și diagnostic de TB. Având în vedere că datele legate de sensibilitatea și specificitatea testelor nu au fost semnificative, neputând valida nici unul dintre teste, am avut în vedere o subanaliză a testelor în cadrul grupului de pacienți cu infecție HIV, în funcție de confirmarea bacteriologică și în funcție de gradul imunodepresiei. La grupul de pacienți cu HIV+TB+bK+, testarea IDR, deși a avut o sensibilitate relativ redusă de 44,8%, a avut o specificitate mai bună (78,9%), iar QFG a avut o sensibilitate de 73,3% și o specificitate de 66,7%. Evaluarea QFG la grupul HIV+bK- a fost invalidată având în vedere numărul redus al pacienților testați (7) și faptul că nici unul dintre ei nu a avut QFG pozitiv. La grupul de pacienți fără imunodepresie severă QFG a avut o bună sensibilitate (66,7%) și specificitate (75,0%).

Nu s-a putut evalua comparativ grupul HIV-TB+, în absența unui grup control HIV-TB-.

Având în vedere că nu toți pacienții au fost evaluați cu cele 3 tipuri de teste, nu am putut evalua concordanța dintre teste sau posibilul efect cumulativ al combinării acestora.

## DISCUȚII

În cadrul studiului actual am demonstrat existența în rândul adolescenților cu infecție HIV a unei rate crescute de confirmare bacteriologică,

care este mai mare față de copiii fără infecție HIV sau cu infecție HIV cu transmitere verticală. Astfel, rata de confirmare bacteriologică în rândul pacienților cu infecție HIV a fost de 61.3%. Această rată crescută este de trei ori mai mare decât cea raportată anterior (4) în cadrul clinicii și poate fi explicată în primul rând prin vârsta pacienților. Un argument în acest sens este faptul că în momentul în care am analizat grupul de copii cu infecție HIV cu transmitere verticală doar 1/3 dintre ei au avut confirmare bacteriologică, aspect similar copiilor HIV negativi din lotul de control, dar și cu rata de pozitivare a culturilor pentru MTB la copii cu infecție HIV-1 cu transmitere verticală (28-31). Confirmarea bacteriologică a diagnosticului de TB trebuie deci privită în mod diferențiat la adolescenți față de copii (32). În cazul adulților, rata de pozitivare a culturilor variază între 55% și 88% (33-35), fără a exista diferențe semnificative între rata de pozitivare la pacienții cu infecție HIV și cei fără infecție HIV (36).

În cadrul studiului, rata crescută de confirmare bacteriologică, care se apropie de cea a adultului poate fi explicată, pe lângă vârsta mare la momentul diagnosticului pe de o parte, și prin tipul prelevatelor – spută în majoritatea cazurilor, dar și lavaj bronhoalveolar obținut prin bronhoscopie, tehnica demonstrându-și utilitatea și în alte circumstanțe (6) (37).

Frecvența crescută a formelor de TB secundară în cadrul lotului studiat constituie o altă explicație a ratei crescute de confirmare bacteriologică. Tuberculoza primară, predominantă în cazul copiilor fără infecție HIV, ca și în rândul celor cu infecție HIV transmisă vertical este o formă



**Tabelul 4.** Analiza sensibilității și specificității celor 3 metode de diagnostic rapid la grupul de pacienți cu infecție HIV-1

	Tip test	Sensibilitate (%)	95% CI pt. sensibilitate	Specificitate (%)	95% CI pt. specificitate	Kappa	95% CI pt. Kappa	Valoare pozitivă predictivă (%)	Valoare negativă predictivă (%)
Grup HIV+TB+	IDR	36.4	26.4-44.9	73.3	58.7-85.8	0.08	-0.13-0.27	66.7	44.0
	ELISA	15.9	8.3-21.8	87.1	76.3-95.5	0.02	-0.13-0.15	63.6	42.2
	QFG	53.8	41.3-63.5	66.7	39.6-87.7	17.4	-0.16-0.43	77.8	40.0
Grup HIV+TB+ bK C+	IDR	44.8	30.4-57.3	78.9	67.9-88.4	0.24	-0.02-0.47	61.9	65.2
	ELISA	14.3	5.2-23.4	87.1	78.9-95.3	0.01	-0.16-0.19	50.0	52.9
	QFG	73.7	57.3-86.0	66.7	40.7-86.2	0.39	-0.02-0.71	77.8	61.5
Grup HIV+TB+ BK-	IDR	20.0	5.6-41.4	73.3	66.2-84.0	-0.07	-0.30-0.27	27.3	64.7
	ELISA	18.8	5.4-34.3	87.1	80.2-95.1	0.07	-0.17-0.34	42.9	67.5
	QFG	0		66.7	78.9-85.1	-0.36	-0.09-0.18	0	53.3
Grup HIV+TB+ BK- la ex direct	IDR	36.0	21.6-50.1	73.3	61.1-85.1	0.09	-0.18-0.36	52.9	57.9
	ELISA	15.4	5.6-25.2	87.1	78.9-95.3	0.03	-0.16-0.28	50.0	55.1
	QFG	36.4	14.6-58.0	66.7	46.7-86.5	0.03	-0.39-0.45	50.0	53.3
Grup HIV+TB+ cu CD4<200 lf/mmc	IDR	9.5	1.9-14.0	90.0	73.9-99.5	-0.01	-0.16-0.09	66.7	32.1
	ELISA	3.6	0.2-9.3	80.0	70.5-96.1	-0.09	-0.16-0.03	33.3	22.9
	QFG	42.9	31.4-54.3	50.0	9.9-90.2	-0.05	-0.38-0.29	75.0	20.0
Grup HIV+TB+ cu CD4>200 lf/mmc	IDR	53.3	31.7-73.4	60.0	43.8-75.1	0.13	-0.24-0.48	50.0	63.2
	ELISA	35.3	18.1-44.9	90.9	77.7-98.3	0.28	-0.05-0.46	75.0	64.5
	QFG	66.7	29.7-91.2	75.0	47.3-93.4	0.41	-0.23-0.84	66.7	75.0

paucibacilară, care ridică serioase probleme de diagnostic pozitiv și diferențial. Prin complicațiile locale, care o apropie ca aspect de TB secundară, TB primară poate prezenta baciloscopie pozitivă: cavernizarea elementelor complexului primar (șan-cru de inoculare, adenopatie), cu leziuni deschise care drenează în bronhii, tuberculizarea peretelui bronșic și fistule. Prin diseminare hematogenă, specifică TB primare, iau naștere TB miliară și TB extrapulmonare (38).

Localizările extrapulmonare și formele diseminate de TB au reprezentat o mică parte (12% și respectiv 9,6%) dintre determinările identificate. Existența acestor localizări nu este neobișnuită la pacienții cu infecție HIV, mai ales în ariile cu endemicitate crescută (39, 40).

Am remarcat în cadrul grupului de copii cu infecție HIV-1 o serie de aspecte clinico-radiologice particulare și anume, prezența formelor primo-secundare (la 6 pacienți), care au ca mecanism patogenetic primoinfecția ftiziogenă, mecanism

frecvent întâlnit la bolnavii infectați HIV. Dacă adenopatia hilară este amprenta TB la copil, formele postprimare sunt mai frecvent întâlnite la adolescenți, chiar și în lipsa asocierii infecției HIV (41).

Celălalt aspect particular prezentat este cel al TB apărute în contextul IRIS. Termenul de sindrom inflamator de reconstituire imună (IRIS) este definit ca un sindrom inflamator indus de o infecție latentă sau subclinică în contextul refacerii sistemului imun prin instituirea tratamentului etiologic sau prin sistarea unui tratament cu efect imun-supresor. Reacția paradoxală inflamatorie poate agrava evoluția clinică și ca urmare poate fi considerată aparent ca eșec al tratamentului antiretroviral sau antimicrobian. Rata reacțiilor „paradoxale”, raportate la pacienții cu co-infecție HIV/TB după inițierea HAART a fost de până la 36%. Reacțiile apar de cele mai multe ori în prima lună de tratament. Conștientizarea existenței acestei entități clinice are o importanță deosebită din punct de vedere clinic,

în ceea ce privește abordarea pacientului cu imunodepresie severă (42). Recent, IRIS a fost implicat/inclus în definiția afecțiunii pulmonare cronice asociată HIV (43).

Deși am menționat că a existat în cadrul lotului studiat o rată crescută de confirmare bacteriologică, ținem însă să menționăm faptul că din punct de vedere practic, pornind de la ideea de a avea un diagnostic cât mai precoce al TB, se remarcă faptul că microscopia care dă informații imediate a fost negativă la 10 din 38 cu confirmare bacteriologică, astfel încât din lotul de 62 adolescenți diagnosticați cu TB, la examenul direct doar 28 au avut frotiu ZN pozitiv (45,1%). Aceleași probleme legate de diferențe între rata de pozitivare a culturilor și cea a examenului direct au fost descrise anterior (44).

La grupul de copii studiat existența imunodepresiei severe și a unei încărcături virale HIV pozitive a fost asociată cu TB. Acest aspect este în concordanță cu observațiile generale legate de epidemiologia TB la copii, unde infecția cu HIV reprezintă un important factor de risc (45, 46). Ca urmare a frecvenței crescute a tuberculozei la copiii cu infecție HIV din România, aceasta a fost inclusă, încă din 1997, în definiția de caz din cadrul fișei de declarare și supraveghere în clasa clinică B.

Istoria naturală și aspectul anatomoclinic ale infecției TB sunt determinate de raportul dintre multiplicarea și diseminarea MTB și mecanismele de apărare ale gazdei. Macrofagele, care fagocitează în mod direct bacilii, și limfocitele T (în special de tip CD4) care induc protecția prin producerea de limfokine, în special IFN- $\gamma$ , sunt celulele direct implicate în mecanismele de apărare. Simultan cu răspunsul celular declanșat de MTB se produce și o activare a răspunsului imun umoral cu rol marginal în apărarea împotriva TB, dar intens studiat în scopul identificării unui marker serologic pentru diagnosticul TB. Scăderea CD4 ca urmare a infecției HIV, interferă cu mecanismul descris anterior și are drept consecință eșecul limitării infecției. Tot ca urmare a imunodepresiei severe, se produce și reactivarea unei infecții latente/endogene – mecanism pe care îl considerăm drept cel mai frecvent în apariția formelor de TB secundară la grupul nostru de pacienți. Imunodepresia severă pune și o serie de alte probleme de ordin practic: (1) testele de diagnostic rapid, orientative sunt de cele mai multe ori negative, așa cum am constatat și la pacienții noștri, (2) aspectul radiologic este cu atât mai puțin sugestiv cu cât gradul imunosupresiei este mai avansat, (3) morfologia leziunilor TB este diferită: aspect non-reactiv cu

granuloame slab organizate sau chiar absente, absența necrozei de caseificare, absența celulelor gigantice, foarte puține celule epiteliale și foarte multe macrofage și monocite. De remarcat este faptul că majoritatea pacienților care au dezvoltat TB au avut imunodepresie severă, din cauza infecției HIV necontrolate de HAART (fie eșec prin lipsă de complianță, fie absența HAART, cazuri nou diagnosticate). Acest aspect este diferit de cazurile de TB raportate în general la populația cu infecție HIV din zonele endemice pentru TB, care este naivă la tratamentul antiretroviral (47, 48).

Interesantă este observația unui recent studiu britanic, în care se menționează că gradul imunodepresiei nu este predictiv pentru determinarea extrapulmonară (49), aspect pe care l-am observat și noi în cadrul grupului de copii studiat.

Un alt obiectiv al studiului actual l-a reprezentat evaluarea semnificației practice a 3 metode rapide de evidențiere a infecției TB în orientarea către diagnosticul de TB. Sensibilitatea celor 3 teste luate în discuție a fost relativ redusă, deși specificitatea lor este mai mare. QFG pare a avea în ansamblu sensibilitatea cea mai mare. Atât QFG, cât și IDR au avut sensibilitate bună la grupul cu confirmare bacteriologică. QFG s-a dovedit un test util în diagnosticul TB la copiii cu infecție HIV fără imunodepresie severă. Nici unul dintre cele 3 teste evaluate nu a putut oferi o soluție viabilă la întrebarea clinicienilor legată de diagnosticul TB la copilul sau adolescentul cu infecție HIV și imunodepresie severă pentru o decizie terapeutică. Interesantă este observația că la grupul de copii cu transmitere verticală la care s-au constatat similitudini clinice cu grupul control HIV- din punct de vedere al confirmării bacteriologice, predominanței formelor primare de tuberculoză, atât IDR, cât și QFG au avut o rată mai redusă de rezultate pozitive. Testele evaluate nu au depins de severitatea sau forma clinico-radiologică a TB.

Intradermoreacția la PPD are, conform unor autori, o specificitate redusă la populația vaccinată BCG și o sensibilitate scăzută la persoanele cu imunodepresie (11, 50). La grupul de pacienți studiați, sensibilitatea IDR a fost de aproximativ 36% și a scăzut semnificativ când analiza s-a limitat la grupul de pacienți cu imunodepresie. Date similare legate de anergie în condiții de imunodepresie severă au fost semnalate anterior (51).

Evaluarea serologică a prezenței anticorpilor anti-mycobacterieni este considerată o abordare utilă prin accesibilitate – în condițiile în care obținerea unui produs patologic viabil (ex. spută) este dificilă, are un preț de cost redus (16, 17).

Deși au fost descrise o serie de încercări de a elabora teste serologice, sensibilitatea acestora este relativ redusă (52-54). Testul ELISA BK, utilizat la grupul nostru de pacienți este o metodă imunoenzimatică „in-house” pusă la punct în cadrul INCDMI „Cantacuzino” prin utilizarea antigenelor glicolipidice izolate din *M. tuberculosis* H37Rv (14, 55). Sensibilitatea testului este însă relativ redusă și îl recomandăm a fi utilizat împreună cu alte teste.

Testele bazate pe determinarea in vitro de interferon-gamma (IFG), care măsoară producția de interferon gamma de către celulele T incubate cu antigen specific de *Mycobacterium tuberculosis* (cum ar fi T-SPOT TB sau QuantiFERON-TB Gold) au apărut mai recent ca și alternative ale IDR pentru diagnosticul TB latente, fiind chiar recomandate în ghidurile de diagnostic și tratament ale infecției HIV (56). Avantajul acestui test, comparativ cu IDR, este lipsa reacțiilor încrucișate cu BCG (23, 57) și faptul că în populația cu imunodepresie pare a se corela mai bine cu riscul de TB (58). Testul, deși s-a dovedit util în diagnosticul TB latente, nu poate fi folosit singur pentru TB tuberculozei active (59), așa cum am demonstrat și noi. De remarcat că în ariile cu endemicitate crescută a infecției cu *M. tuberculosis*, sensibilitatea testului este mai redusă (60, 61). În cadrul grupului de pacienți evaluați din SVB, QFG a demonstrat

cea mai mare sensibilitate în comparație cu celelalte 2 teste. De asemenea, s-au observat rezultate ceva mai bune în cadrul grupului cu imunodepresie severă. Cu toate acestea, rezultatele trebuie să fie interpretate cu precauție, având în vedere atât mărimea lotului, cât și faptul că nu s-a putut constitui un grup semnificativ care să permită evaluarea eficienței testelor asociate. Sensibilitatea redusă a tuturor celor 3 teste luate în discuție pentru orientarea în diagnosticul rapid al infecțiilor cu mycobacterii impune, pe de o parte, extinderea lotului pentru a se putea face o analiză a concordanței dintre testele folosite și, pe de altă parte, îmbunătățirea tehnicilor de diagnostic.

În concluzie, deși la adolescenții cu infecție HIV-1 rata de confirmare bacteriologică a tuberculozei a fost dublă comparativ cu cea raportată la copii, diagnosticul precoce continuă să reprezinte o problemă. Mai puțin de jumătate din pacienți au avut examenul direct pozitiv. Testele de diagnostic a tuberculozei latente, au furnizat rezultate reliabile doar pentru pacienții cu confirmare bacteriologică și cei fără imunodepresie severă. Din punct de vedere practic rămâne nerezolvată problema diagnosticului rapid al tuberculozei la grupul de adolescenți și copii cu infecție HIV și imunodepresie severă. Sunt necesare studii suplimentare pentru îmbunătățirea tehnicilor de diagnostic rapid.

## BIBLIOGRAFIE

1. **Powell, DA and WG Hunt**, Tuberculosis in children: an update. *Adv Pediatr*, 2006. 53: p. 279-322.
2. **Sharma, SK and G Ahluwalia**, HIV and tuberculosis. *Indian J Chest Dis Allied Sci*, 2000. 42(2): p. 77-81.
3. [www.cnlas.ro/hiv/statistica.htm](http://www.cnlas.ro/hiv/statistica.htm). 2008 (cited 2008 13-Sept).
4. **Duiculescu D, et al**, Prevalența și incidența infecțiilor oportuniste la copiii cu infecție HIV-1 din Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș” din București. Craiova Medicală 2004. Vol 6(Supl 3): p. 135-136.
5. **Sotgiu G, et al**, High risk of tuberculosis in health care workers in Romania. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2008. 12(6): p. 606-11.
6. **Morcillo N**, Tuberculosis in Children. 525-558, in *Tuberculosis 2007, From Basic Science to Patient Care*, L.S. Palomino JC, Ritacco V, Editor. 2007. [www.TuberculosisTextbook.com](http://www.TuberculosisTextbook.com).
7. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This is a Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). This statement was endorsed by the Council of the Infectious Diseases Society of America. (IDSA), September 1999, and the sections of this statement. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000. 161(4 Pt 2): p. S221-47.
8. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. American Thoracic Society. *MMWR Recomm Rep*, 2000. 49(RR-6): p. 1-51.
9. **Stavri H, et al**, Mycobacterial infections detection in HIV positive children using two serologic assays and tuberculin skin test, in 13th International Congress of IMMUNOLOGY, C.-N.E. by Kalil J, Rizzo LV, Editor. 2007, Medimond International Proceedings, Rio de Janeiro (Brazil): 21-25 August 2007. p. 79-84.
10. **Marais BJ, et al**, Diagnostic and management challenges for childhood tuberculosis in the era of HIV. *J Infect Dis*, 2007. 196 Suppl 1: p. S76-85.
11. **Richeldi L**, An update on the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006. 174(7): p. 736-42.
12. **Garg SK, et al**, Diagnosis of tuberculosis: available technologies, limitations, and possibilities. *J Clin Lab Anal*, 2003. 17(5): p. 155-63.
13. **Daniel TM and SM Debanne**, The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am Rev Respir Dis*, 1987. 135(5): p. 1137-51.
14. **Niculescu D, et al**, Clinical usefulness of rapid serodiagnosis in pulmonary tuberculosis by ELISA with glycolipidic antigens extracted from *Mycobacterium tuberculosis* and with whole BCG suspension. *Roum Arch Microbiol Immunol*, 1995. 54(4): p. 277-84.
15. **Stavri H, et al**, Rapid dot sputum and serum assay in pulmonary tuberculosis. *J Microbiol Methods*, 2003. 52(3): p. 285-96.
16. **Abebe F, et al**, Progress in serodiagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Scand J Immunol*, 2007. 66(2-3): p. 176-91.
17. **Chan ED, L Heifets, and MD Iseman**, Immunologic diagnosis of tuberculosis: a review. *Tuber Lung Dis*, 2000. 80(3): p. 131-40.
18. **Taylor RE, AJ Cant and JE Clark**, Potential effect of NICE tuberculosis guidelines on paediatric tuberculosis screening. *Arch Dis Child*, 2008. 93(3): p. 200-3.

19. **Molicotti P et al** Performance of QuantiFERON-TB testing in a tuberculosis outbreak at a primary school. *J Pediatr*, 2008. 152(4): p. 585-6.
20. **Higuchi K, et al**, Relationship between whole-blood interferon-gamma responses and the risk of active tuberculosis. *Tuberculosis* (Edinb), 2008. 88(3): p. 244-8.
21. **Lagrange PH, N Simonney and JL Herrmann** (New immunological tests in the diagnosis of tuberculosis). *Rev Mal Respir*, 2007. 24(4 Pt 1): p. 453-72.
22. **Mandalakas AM, et al**, High level of discordant IGRA results in HIV-infected adults and children. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2008. 12(4): p. 417-23.
23. **Okada K, et al**, Performance of an interferon-gamma release assay for diagnosing latent tuberculosis infection in children. *Epidemiol Infect*, 2008. 136(9): p. 1179-87.
24. **Dogra S et al**, Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J Infect*, 2007. 54(3): p. 267-76.
25. **Zellweger JP**, Latent tuberculosis: which test in which situation? *Swiss Med Wkly*, 2008. 138(3-4): p. 31-7.
26. **Mazurek GH et al**, Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States. *MMWR Recomm Rep*, 2005. 54(RR-15): p. 49-55.
27. **Lipsky BA, et al**, Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli. *Rev Infect Dis*, 1984. 6(2): p. 214-22.
28. **Schaaf HS, et al**, Culture-confirmed childhood tuberculosis in Cape Town, South Africa: a review of 596 cases. *BMC Infect Dis*, 2007. 7: p. 140.
29. **Kumar AS Upadhyay and G Kumari**, Clinical Presentation, treatment outcome and survival among the HIV infected children with culture confirmed tuberculosis. *Curr HIV Res*, 2007. 5(5): p. 499-504.
30. **Viani RM, et al**, Poor outcome is associated with delayed tuberculosis diagnosis in HIV-infected children in Baja California, Mexico. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2008. 12(4): p. 411-6.
31. **Lolekha R, et al**, Childhood TB epidemiology and treatment outcomes in Thailand: a TB active surveillance network, 2004 to 2006. *BMC Infect Dis*, 2008. 8: p. 94.
32. **de Pontual L, et al**, Tuberculosis in adolescents: A French retrospective study of 52 cases. *Pediatr Infect Dis J*, 2006. 25(10): p. 930-2.
33. **Carroll NM, et al**, Reduction of the rate of false-positive cultures of Mycobacterium tuberculosis in a laboratory with a high culture positivity rate. *Clin Chem Lab Med*, 2002. 40(9): p. 888-92.
34. **Naucier A, et al**, Pulmonary tuberculosis in Guinea-Bissau: clinical and bacteriological findings, human immunodeficiency virus status and short term survival of hospitalized patients. *Tuber Lung Dis*, 1996. 77(3): p. 226-32.
35. **Kolsuz M, et al**, (The evaluation of pulmonary tuberculosis patients enrolled to Eskisehir Deliklitas Tuberculosis Control Dispensary). *Tuberk Toraks*, 2003. 51(2): p. 163-70.
36. **Ramachandran R, et al**, Seroprevalence of human immunodeficiency virus (HIV) infection among tuberculosis patients in Tamil Nadu. *Indian J Med Res*, 2003. 118: p. 147-51.
37. **Petrovic S**, (Diagnostic value of certain methods for isolation of Mycobacterium tuberculosis in children with suspected pulmonary tuberculosis). *Med Pregl*, 2005. 58(5-6): p. 231-5.
38. **Anane T and JP Grangaud**, Diagnosis of tuberculosis in children. *Child Trop*, 1992(196-197): p. 20-9.
39. **Marais BJ, et al**, The spectrum of disease in children treated for tuberculosis in a highly endemic area. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2006. 10(7): p. 732-8.
40. **Shahab T, et al**, Prevalence of human immunodeficiency virus infection in children with tuberculosis. *Indian Pediatr*, 2004. 41(6): p. 595-9.
41. **Agrons GA, RI Markowitz and SS Kramer** Pulmonary tuberculosis in children. *Semin Roentgenol*, 1993. 28(2): p. 158-72.
42. **Duiculescu D, Ene L**, Sindromul Inflamator de Reconstituire Imună la Pacienții cu Infecție HIV-1 *Revista Română de Boli Infecțioase* 2005. 8(2): p. 44-51.
43. **Zar HJ**, Chronic lung disease in human immunodeficiency virus (HIV) infected children. *Pediatr Pulmonol*, 2008. 43(1): p. 1-10.
44. **Zar HJ, et al**, Induced sputum versus gastric lavage for microbiological confirmation of pulmonary tuberculosis in infants and young children: a prospective study. *Lancet*, 2005. 365(9454): p. 130-4.
45. **Feja K and L Saiman**, Tuberculosis in children. *Clin Chest Med*, 2005. 26(2): p. 295-312, vii.
46. **Soeters M, et al**, Clinical features and outcome in children admitted to a TB hospital in the Western Cape—the influence of HIV infection and drug resistance. *S Afr Med J*, 2005. 95(8): p. 602-6.
47. **Sanguanwongse N, et al**, Antiretroviral therapy for HIV-infected tuberculosis patients saves lives but needs to be used more frequently in Thailand. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2008. 48(2): p. 181-9.
48. **Agarwal D, et al**, Correlation between clinical features and degree of immunosuppression in HIV infected children. *Indian Pediatr*, 2008. 45(2): p. 140-3.
49. **Cohen JM, et al**, Presentation, diagnosis and management of tuberculosis in HIV-infected children in the UK. *HIV Med*, 2008. 9(5): p. 277-84.
50. **Kiwanuka J, et al**, Diagnosis of pulmonary tuberculosis in children in an HIV-endemic area, Malawi. *Ann Trop Paediatr*, 2001. 21(1): p. 5-14.
51. **Huebner RE, et al**, Delayed-type hypersensitivity anergy in human immunodeficiency virus-infected persons screened for infection with Mycobacterium tuberculosis. *Clin Infect Dis*, 1994. 19(1): p. 26-32.
52. **Lalvani A and KA Millington**, T cell-based diagnosis of childhood tuberculosis infection. *Curr Opin Infect Dis*, 2007. 20(3): p. 264-71.
53. **Umadevi KR, B Ramalingam and A Raja**, Qualitative and quantitative analysis of antibody response in childhood tuberculosis against antigens of mycobacterium tuberculosis. *Indian J Med Microbiol*, 2002. 20(3): p. 145-9.
54. **Ispas D, et al**, Evidence for tuberculous infection in Romanian HIV-positive children by enzyme-linked immunosorbent assay. *Pediatr AIDS HIV Infect*, 1996. 7(2): p. 98-102.
55. **Popa MI, et al**, (The usefulness of demonstrating the presence of antimycobacterial antibodies. A comparative study of 2 different technics (ELISA and Myco-Dot)). *Bacterial Virusol Parazitol Epidemiol*, 1997. 42(3): p. 179-81.
56. **Hammer SM, et al**, Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *JAMA*, 2008. 300(5): p. 555-70.
57. **Dominguez J, et al**, Comparison of two commercially available gamma interferon blood tests for immunodiagnosis of tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol*, 2008. 15(1): p. 168-71.
58. **Manuel O and D Kumar**, QuantiFERON-TB Gold assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection. *Expert Rev Mol Diagn*, 2008. 8(3): p. 247-56.
59. **Dewan PK, J Grinsdale, and LM Kawamura**, Low sensitivity of a whole-blood interferon-gamma release assay for detection of active tuberculosis. *Clin Infect Dis*, 2007. 44(1): p. 69-73.
60. **Hesseling AC, et al**, Highly Discordant T-Cell Responses In Individuals With Recent Household Tuberculosis Exposure. *Thorax*, 2008.
61. **Connell TG, et al**, QuantiFERON-TB Gold: state of the art for the diagnosis of tuberculosis infection? *Expert Rev Mol Diagn*, 2006. 6(5): p. 663-77.

**Mulțumim:** copiilor și adolescenților care au participat la studiu, asistentelor medicale și medicilor (Eugenia Ungureanu, Cristiana Oprea și Roxana Rădoi) din Secția a V-a, Clinica Spitalului „Dr. Victor Babeș”, care au îngrijit o parte dintre pacienți și dr. Grațiela Târdei care a lucrat Quantiferon Gold TB.