

Tomografía computarizada y reacción en cadena de la polimerasa en la infección tuberculosa de la infancia

D. Gómez-Pastrana Durán*, P. Caro Mateo**, R. Torronteras Santiago***, M.L. Anguita Quesada**, A.M. López Barrio**, A. Andrés Martín* y J. Navarro González*

*Sección de Neumología Pediátrica. **Servicio de Radiología. ***Sección de Microbiología. Hospital Infantil Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.

La diferencia entre infección y enfermedad tuberculosa puede ser difícil de establecer en la edad pediátrica. En ocasiones, puede estar presente una mínima enfermedad activa, y no ser reconocida por la radiografía de tórax ni los métodos microbiológicos habituales. Hemos realizado una tomografía computarizada a 22 niños con infección tuberculosa, radiografía de tórax normal y bacteriología negativa. En 16 de ellos, además, se realizó amplificación de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa en muestras de aspirado gástrico.

Encontramos un aumento de los ganglios linfáticos mediante la tomografía computarizada en 14 de los 22 niños estudiados (63%). Las adenopatías fueron más frecuentes en los menores de 8 años y en las cadenas paratraqueales derechas. La reacción en cadena de la polimerasa fue positiva en 4 de 8 niños con tomografía patológica y fue negativa en los 8 niños con tomografía normal.

El hallazgo de enfermedad activa no reconocida por los métodos diagnósticos tradicionales plantea la cuestión del tratamiento correcto de los niños con infección tuberculosa. La asociación de un segundo fármaco a la isoniácida sería lo más adecuado en niños menores de 8 años.

Palabras clave: Infección tuberculosa. Tomografía computarizada. Reacción en cadena de la polimerasa.

Arch Bronconeumol 1996; 32: 500-504

Introducción

La OMS considera que un tercio de la población mundial está infectada por *Mycobacterium tuberculosis* y que cada año aparecen de 8 a 10 millones de casos nuevos. Aproximadamente, 1,3 millones de casos y 450.000 muertes ocurren anualmente en niños en países en desarrollo¹. En España el grupo TIR ha estimado en el año 1993 una tasa específica de tuberculosis infantil de 11,62 por 100.000, con una prevalencia de la infección del 1% para la edad de 6,5 años y del 4,40% para los 13,5 años². La tuberculosis infantil es importante no

Computerized tomography and polymerase chain reaction in pediatric tuberculosis infection

The recognition of children with tuberculous infection without disease is often difficult. Minimal active disease may be present in many cases but unrecognised on chest radiography or by microbiologic methods. We have performed computed tomography in 22 children with tuberculous infection, a normal chest radiograph and negative micobacterial culture. In 16 children we also performed DNA amplification by polymerase chain reaction in gastric aspirates.

It was found that 14 of 22 (63%) infected children had enlarged lymph nodes. Adenopathies were more frequent in children less than 8 years-old and in the right paratracheal positions. Polymerase chain reaction was positive in 4 of 8 studied children with abnormal computed tomography and in none of the children with normal computed tomography.

The demonstration of unrecognised active disease raises the question of the adequate treatment for the children with tuberculous infection. It is proposed that a two drug regimen would be more appropriate than isoniazid alone in children less than 8 years old.

Key words: Tuberculous infection. Computed tomography. Polymerase chain reaction.

sólo por su morbilidad y mortalidad diferente, sino porque los niños infectados constituyen el grupo de donde en el futuro surgirán muchos de los nuevos casos de tuberculosis³. Por tanto, los esfuerzos deben centrarse no sólo en el tratamiento de los pacientes con enfermedad activa, sino también en el tratamiento preventivo de los nuevos casos de infección sin enfermedad⁴.

La diferencia entre infección y enfermedad puede ser difícil de establecer en la edad pediátrica. Para la American Thoracic Society (ATS) los casos de infección sin enfermedad (grupo 2 de su clasificación) incluyen a las personas con tuberculina positiva, estudios bacteriológicos negativos y sin evidencia clínica ni radiológica de tuberculosis⁵. No obstante, las formas predominantes de afección torácica en la infancia suelen ser adenopáticas, de pobre traducción en la radiografía convencional de tórax, por su tamaño y su frecuente localización en el

Correspondencia: Dr. D. Gómez-Pastrana Durán. Ramón Carande 28. 1.º D. 41013 Sevilla.

Recibido: 27-12-95; aceptado para su publicación: 26-2-96.

mediastino. La tomografía computarizada (TC) se ha mostrado como una técnica más sensible, que puede detectar la presencia de adenopatías hiliares y mediastínicas que hayan pasado desapercibidas en la radiografía de tórax, apareciendo como masas con hipodensidad central tras la inyección de un contraste intravenoso⁶. Por otro lado, los estudios microbiológicos suelen realizarse en muestras de aspirado gástrico con una baja sensibilidad (20-30%)⁷. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica que permite la clonación in vitro de cualquier segmento de ADN, obteniendo cantidades suficientes para un estudio molecular posterior. Recientemente, se ha introducido en la tuberculosis, para intentar aumentar la sensibilidad (puede detectar menos de un genoma del bacilo en muestras clínicas) y la rapidez del diagnóstico (realización en 1-2 días)⁸⁻¹⁵. Su capacidad de amplificar el ADN la hace especialmente útil en las formas de enfermedad donde la confirmación bacteriológica es difícil por existir pocos gérmenes en las muestras clínicas, como la tuberculosis pleural¹⁶, la meningitis tuberculosa¹⁷ o la primoinfección tuberculosa^{18,19}.

Postulamos que puede existir una mínima enfermedad activa no evidenciada en la radiografía convencional de tórax ni por los métodos microbiológicos habituales. Para ello hemos realizado una TC y la detección del ADN de *Mycobacterium tuberculosis* mediante PCR en niños con infección tuberculosa; es decir, Mantoux positivo con radiografía de tórax normal y bacteriología negativa.

Material y métodos

Pacientes

Han sido incluidos 22 niños (11 niños y 11 niñas) con infección tuberculosa sin enfermedad aparente, con edades comprendidas entre 1 y 13 años (\bar{X} = 5,6; DE = 3,44). Los criterios de selección fueron: a) Mantoux igual o superior a 5 mm de induración (utilizando PPD RT 23 2 UT); b) estar asintomático en el momento del estudio; c) radiografía anteroposterior de tórax normal confirmada por dos radiólogos pediátricos y un pediatra; d) tres aspirados gástricos negativos para Ziehl y Löwenstein, y e) ausencia de tratamiento específico anterior. La tuberculina había sido realizada de forma rutinaria (11 niños) o bien como estudio de contactos de pacientes con tuberculosis (11 niños).

Los niños fueron clasificados en 3 grupos según sus edades: menores de 4 años, 7 casos (\bar{X} = 2,1 años; DE = 0,69); de 4-8 años, 9 casos (\bar{X} = 5,3 años; DE = 1,32) y más de 8 años, 6 casos (\bar{X} = 10,3 años; DE = 1,63).

Tomografía computarizada

A todos los niños se les realizó TC con contraste intravenoso (Iohexol a dosis de 2 ml/kg), practicando cortes de 5 mm de espesor e intervalo, desde los ápices hasta las bases pulmonares. Para ello se utilizó un equipo CT Pace General Electric Medical System. Se analizaron las cadenas ganglionares según la clasificación de la ATS²⁰. Nos hemos basado en el trabajo de Delacourt²¹ para medir el tamaño ganglionar normal en las distintas localizaciones y grupos de edad, considerando patológico a partir de las siguientes medidas. En cadenas mediastínicas: menores de 4 años, 5 mm; entre 4 y 8 años,

6 mm; mayores de 8 años, 7 mm; en las cadenas hiliares: menores de 4 años, 4 mm; entre 4 y 8 años, 5 mm, y mayores de 8 años, 6 mm.

Muestras clínicas

Se tomaron muestras de aspirado gástrico durante 3 días consecutivos en 16 niños del estudio, a primera hora de la mañana, después de un período de ayunas de 8 h. En la mitad de cada muestra se realizó tinción de Ziehl-Neelsen y cultivo de Löwenstein-Jensen. La otra mitad fue utilizada para detección de ADN de *Mycobacterium tuberculosis* mediante PCR.

Reacción en cadena de la polimerasa

Para la detección del ADN de *Mycobacterium tuberculosis* realizamos la amplificación en dos pasos. Se efectuó una primera amplificación estándar de un segmento del genoma que codifica el antígeno 65 kDa y, posteriormente, el ADN de esta amplificación esreamplificado con un segundo set de primers. Brevemente el procedimiento consta de los siguientes pasos:

1. *Homogeneización, descontaminación y concentración de la muestra.* Tratamiento con una solución de hidróxido sódico al 4%, neutralizada con ácido sulfúrico 4%, PBS pH 7,2 y tris clorhídrico al 1%.

2. *Extracción del ADN.* Se realiza añadiendo una solución de lisis que contiene 0,4% de hidróxido sódico y 1% de SDS. Posteriormente se neutraliza con una solución de tris clorhídrico.

3. *Amplificación.* Realizamos dos amplificaciones. Una primera con los primers TB-1 y TB-2 y una segunda con los primers TB-28 y TB-29C, que reconocen secuencias contenidas en el fragmento amplificado anteriormente, según describen Pierre et al²².

4. *Detección del amplificado.* La visualización se realiza en placas de electroforesis de poliacrilamida con el amplificado, tinción de bromuro de etidio y visualización en transiluminadora ultravioleta.

Resultados

Tomografía computarizada

En 14 de los 22 niños estudiados (63%) encontramos un aumento de las cadenas ganglionares al compararlos con el grupo control²¹. En todos excepto en dos casos, estaban afectadas dos o más cadenas, principalmente las paratraqueales derechas (fig. 1). En 4 niños encontramos asociado un infiltrado pulmonar periférico (chancre de inoculación) que también había pasado inadvertido en la radiografía simple (figs. 2 y 3). En cuanto a los grupos de edad encontramos 5 niños con TC patológica de siete estudiados en el grupo de menores de 4 años (71%), 7 de 9 niños en el grupo de 4-8 años (77%) y 2 de 6 niños en el grupo de mayores de 8 años (33%) (tabla I). El tamaño medio de las adenopatías encontradas fue de 9,6 mm (DE= 5,22) en los niños menores de 4 años, 8,6 mm (DE = 4,13) en el grupo de 4-8 años y 8 mm (DE = 4,24) en los mayores de 8 años.

Reacción en cadena de la polimerasa

Realizamos PCR de aspirado gástrico en 16 niños de los que ocho tenían tomografía patológica y ocho nor-

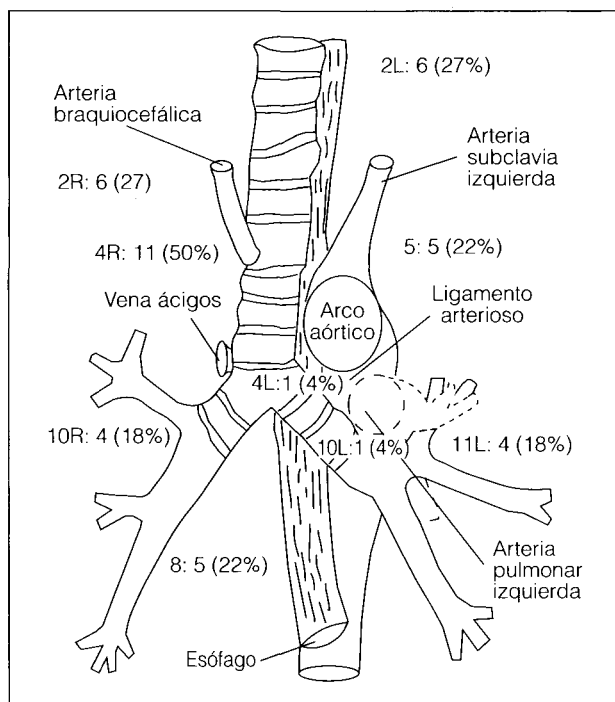


Fig. 1. Esquema de las cadenas ganglionares de la American Thoracic Society. Al lado de cada cadena, el número de niños que la tiene afectada y el porcentaje de afectación. 2R: paratraqueal derecha superior; 2L: paratraqueal izquierda superior; 4R: paratraqueal derecha inferior; 4L: paratraqueal izquierda inferior; 5: aortopulmonar; 8: paraesofágica; 10R: peribronquial derecha; 10L: peribronquial izquierda; 11L: intrapulmonar o hilar izquierda.

mal. En todos los pacientes con estudio tomográfico normal la PCR fue negativa. En 4 de los 8 niños (50%) con hallazgos positivos en la tomografía pudimos encontrar el ADN de *Mycobacterium tuberculosis* en alguno de sus aspirados gástricos (tabla I). La PCR fue positiva en las tres muestras en un niño, en dos de las tres muestras en un caso (muestras segunda y tercera) y sólo en uno de los tres aspirados gástricos en 2 niños (primera muestra en uno y segunda muestra en el otro).

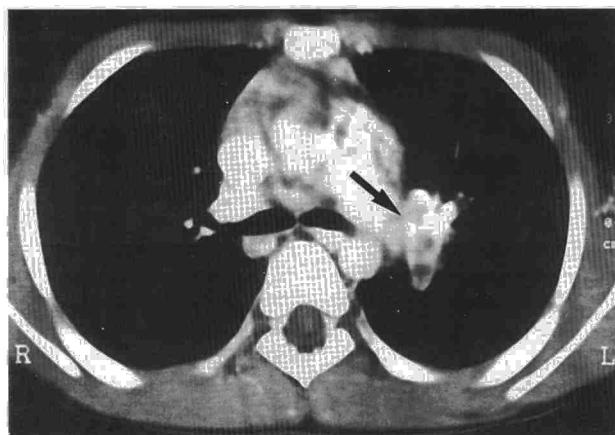


Fig. 2. Niño de 7 años con infección tuberculosa y radiografía de tórax normal. El corte tomográfico muestra adenopatías en la cadena 11L (flecha). En otros cortes de la misma se aprecian adenopatías en las cadenas 2R, 4R, 5 y 8.

Discusión

El diagnóstico de tuberculosis en la infancia tiene gran importancia por la posibilidad de infecciones diseminadas y extrapulmonares. Además, los niños con infección tuberculosa primaria son un reservorio del que pueden surgir nuevos casos. El éxito del control de la tuberculosis se basa en el tratamiento preventivo de los casos con infección y el uso de tratamiento específico para los casos de enfermedad activa. Sin embargo, la diferencia entre infección y enfermedad puede ser difícil de establecer en la tuberculosis infantil. Así, la ausencia de alteraciones radiográficas y del aislamiento del bacilo tuberculoso lleva generalmente a la conclusión de que no hay enfermedad. No obstante, hemos encontrado que un 63% de los niños de nuestro estudio tenían aumentados los ganglios linfáticos por TC. En la patogenia de la enfermedad tuberculosa se afectan los ganglios hiliares y mediastínicos, pudiendo evolucionar a enfermedad activa con más frecuencia de lo que los hallazgos radiográficos nos pudieran indicar. Esto vendría apoyado por la frecuente existencia de cadenas ganglionares patológicas en la TC, incluso en más de dos zonas en el 85% de los afectados, que pasan desapercibidas en la radiografía convencional.

Por otro lado, los estudios microbiológicos suelen realizarse en muestras de aspirado gástrico con una baja sensibilidad en la detección del bacilo tuberculoso tanto en la tinción directa (5-10%) como en el cultivo (20-30%)⁷. Incluso con la combinación de lavado broncoalveolar por fibrobroncoscopia y aspirado gástrico posterior, el rendimiento no suele ser superior al 25%²³. Con la introducción de técnicas de detección de ADN mediante PCR se ha podido aumentar el rendimiento diagnóstico en la tuberculosis. Aunque la experiencia en niños es todavía limitada, la PCR se ha mostrado más sensible que el cultivo, obteniendo una sensibilidad del 60-80% en la tuberculosis primaria^{18,19}. Sin embargo, Delacourt encuentra también PCR positivas en el 38% de los niños con infección sin enfermedad¹⁹, pudiéndose cuestionar si esta técnica es capaz de diferenciar infec-

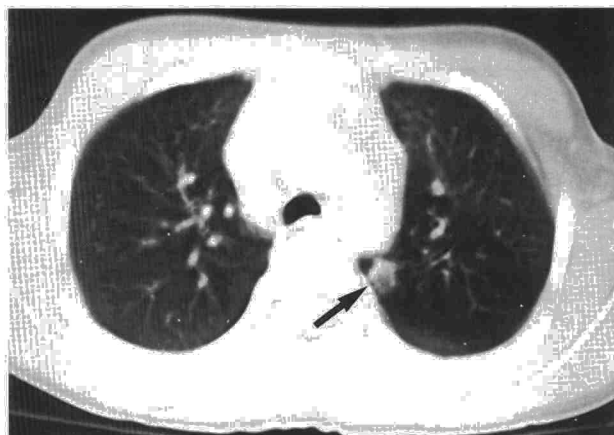


Fig. 3. El mismo niño de la figura 2. Corte tomográfico que pone de manifiesto un infiltrado pulmonar en el segmento posterior del lóbulo superior izquierdo (chancro de Ghon).



TABLA I
Características de 22 niños con infección tuberculosa

Edad (años)	Sexo (V/M)	Mantoux (mm)	Tomografía computarizada	Reacción en cadena de la polimerasa
1	V	15	Normal	Negativa
2	M	12	4R, 5, 8, 10R, 11L	Positiva (1 de 3)
2	V	13	2R, 4R, 8	Negativa
2	V	17	2R, 4R	Sin hacer
2	M	15	2L, 4R, 5, 8, lesión focal	Sin hacer
3	V	12	5, lesión focal	Positiva (3 de 3)
3	M	10	Normal	Negativa
4	V	12	2L, 4R, 10R, lesión focal	Sin hacer
4	V	10	4R	Negativa
4	M	10	Normal	Negativa
5	V	8	2R, 2L, 4R	Negativa
5	M	17	2L, 10R, 11L	Negativa
5	M	20	2R, 4R, 10R	Sin hacer
7	M	10	Normal	Negativa
7	V	12	2R, 4R, 5, 8, 11L, lesión focal	Positiva (1 de 3)
7	V	12	2R, 2L, 4R	Sin hacer
9	M	15	4L, 5, 8, 10L, 11L	Positiva (2 de 3)
9	V	20	Normal	Negativa
9	M	13	Normal	Negativa
11	M	13	2L, 4R	Sin hacer
11	V	12	Normal	Negativa
13	V	15	Normal	Negativa

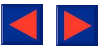
ción y enfermedad tuberculosa³. El hecho de que hayamos encontrado PCR positivas en el 50% de los niños estudiados con TC patológica, y en ningún niño con TC normal, apoya la hipótesis de que estos niños catalogados de infección en los que se encuentra PCR positiva corresponden a formas de enfermedad ganglionar no apreciadas en la radiografía de tórax.

Aunque la PCR se ha mostrado más sensible y rápida que las técnicas microbiológicas habituales, actualmente existe una gran controversia en cuanto a su utilización, debido a que no existe uniformidad en la realización de los distintos pasos de la reacción (extracción del ADN, secuencia amplificada, detección del amplificado) y debido a los resultados discordantes obtenidos por diferentes autores⁸⁻¹⁵. Además, la técnica comercializada de PCR más empleada en tuberculosis (Amplicor *Mycobacterium tuberculosis* Test, Roche Diagnostic Systems) ha mostrado una buena sensibilidad pero inferior al cultivo, disminuyendo su rendimiento en muestras no respiratorias²⁴. Hemos realizado una segunda amplificación (reamplificación) para aumentar la sensibilidad y la especificidad de la prueba, con la detección del amplificado directamente en gel de poliacrilamida sin necesidad de hibridación posterior^{11,22}. Sin embargo, sólo hemos encontrado un niño con las tres muestras positivas por PCR y cuatro con TC alterada han tenido PCR negativas en todas sus muestras, lo cual indica que la PCR tampoco es capaz de detectar todos los casos de tuberculosis y que la toma de varias muestras es fundamental para aumentar la probabilidad del diagnóstico en las formas paucibacilares de la enfermedad.

La TC y la PCR son, por tanto, técnicas de gran ayuda en la tuberculosis infantil aunque, según nuestro criterio, deberían reservarse para aquellos casos en los que el diagnóstico no se realice según los parámetros clínicos, radiológicos y epidemiológicos tradicionales y, so-

bre todo, cuando la situación del enfermo requiera una técnica de mayor precisión y rapidez. Sin embargo, el objeto de este estudio no es tanto la consideración de si hay que realizar TC y PCR a los niños con infección tuberculosa, como analizar si todos estos pacientes están siendo tratados correctamente, lo cual es de gran importancia, pues el 75% de los niños con infección tuberculosa tienen una radiografía de tórax normal. Las guías terapéuticas actuales recomiendan la utilización de isoniacida durante 6-9 meses en los casos de infección tuberculosa y la asociación de tres fármacos (2 HRZ + 4 HR) si aparecen signos de enfermedad activa (alteraciones radiológicas o microbiológicas)^{25,26}. Esto es debido a que, según las lesiones que existan en cada caso, podemos establecer la población bacilar que hay en ella y la proporción de los mutantes resistentes que pueden aparecer espontáneamente frente a los fármacos antituberculosos. En el caso de la isoniacida esta proporción es de 10^5 - 10^6 . Aunque la población bacilar estimada en las adenopatías es aproximadamente 10^2 - 10^5 , habitualmente se recomienda el tratamiento con tres fármacos cuando se visualizan en la radiografía de tórax^{25,26}. Además, cuando la radiografía de tórax es normal no siempre la población bacilar es tan pequeña. En casos de coinfección VIH y tuberculosis, donde son frecuentes las formas adenopáticas, se han demostrado baciloscopias positivas (que implican una población bacilar mayor de 10^5) en pacientes sin alteraciones en la radiografía de tórax²⁷.

Existen pautas alternativas de quimioprofilaxis de la infección tuberculosa que incluyen la asociación de rifampicina, acortando la duración a 3 meses (3 HR)²⁸. Por otro lado, aunque las formas de enfermedad ganglionar deben tratarse con la pauta habitual (2 HRZ + 4 HR), cuando la resistencia es improbable, se puede utilizar un tratamiento de 6 meses con isoniacida y rifam-



picina (6 HR)²⁹. De igual manera, en los adultos con tuberculosis activa cuyas baciloscopias y cultivos son negativos, es aceptable una pauta de 4 meses con isoniácida y rifampicina (4 HR)²⁵. Algunos autores aconsejan la utilización sistemática en niños con menos de 4 años de dos fármacos en la infección tuberculosa para prevenir el tratamiento insuficiente en formas de mínima enfermedad activa²¹. Sin embargo, no hemos encontrado una mayor incidencia de tomografías alteradas en los niños menores de 4 años, respecto al grupo de 4-8 años (el 71 y el 77%, respectivamente), pero sí respecto a los mayores de 8 años (sólo un 33% de afectados). El añadir un segundo fármaco al tratamiento contrasta con la buena evolución que parecen tener estos pacientes en la práctica clínica. Hay que contraponer este hecho con las series amplias que han comprobado que un 6% de los casos nuevos de tuberculosis activas se producen por un fallo en el régimen profiláctico con isoniácida, sin que sean debidas a un mal cumplimiento ni a la resistencia primaria a la isoniácida³⁰. También conviene tener en cuenta el aumento de resistencias iniciales y adquiridas a los principales fármacos antituberculosos observado en la población general³¹, aunque no en España³². Por tanto, dada la frecuencia de la enfermedad ganglionar que puede pasar desapercibida por las técnicas de diagnóstico convencionales y disponiendo de esquemas válidos tanto de quimioprofilaxis de infección tuberculosa como de tratamiento de enfermedad ganglionar, que incluyen la asociación de isoniácida y rifampicina^{25,28,29}, creemos que debería asociarse isoniácida y rifampicina por un período de 3-6 meses en los niños menores de 8 años con Mantoux positivo aunque no exista evidencia de enfermedad activa; de tal manera que tanto los casos de infección como los casos de enfermedad ganglionar quedarán perfectamente cubiertos. De cualquier forma, se necesitan estudios que comparen a largo plazo el tratamiento con uno o dos fármacos en estos niños.

BIBLIOGRAFÍA

- Kochi A. The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. *Tubercle* 1991; 72: 1-6.
- Caminero JA. Estado de la infección y la enfermedad tuberculosa en España. Resultado de las encuestas desarrolladas por el Área Tuberculosis e Infecciones Respiratorias de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. Documentos en repografía. Años 1988 a 1993.
- Starke JR, Jacobs RF, Jereb J. Resurgence of tuberculosis in children. *J Pediatr* 1992; 120: 839-855.
- Bass JB Jr. Tuberculin test, preventive therapy and elimination of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 812-813.
- American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 725-735.
- Im JG, Song KS, Kang HS, Park JH, Yeon KM, Han MCh et al. Mediastinal tuberculous lymphadenitis: CT manifestation. *Radiology* 1987; 164: 115-119.
- Snider DE Jr, Rieder HL, Combs D, Bloch AB, Hayden CH, Smith MHD. Tuberculosis in children. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7: 271-278.
- Eisenach KD, Cave MD, Bates JH, Crawford JT. Polymerase chain reaction amplification of a repetitive DNA sequence specific for *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis* 1990; 161: 977-981.
- Brisson-Noel A, Gicquel B, Lecossier D, Lévy-Frébault V, Nassif X, Hance AJ. Rapid diagnosis of tuberculosis by amplification of mycobacterial DNA in clinical samples. *Lancet* 1989; 2: 1.069-1.071.
- Brisson-Noel A, Aznar C, Chureau C, Nguyen S, Pierre C, Bartoli M et al. Diagnosis of tuberculosis by DNA amplification in clinical practice evaluation. *Lancet* 1991; 338: 364-366.
- Narita M, Matsunozono Y, Shibata M, Togashi T. Nested amplification protocol for the detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *Acta Paediatr* 1992; 81: 997-1.001.
- Patel RJ, Fries WU, Piessens WF, Wirth DF. Sequence analysis and amplification by polymerase chain reaction of a cloned DNA fragment for identification of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 513-518.
- Boom R, Sol CJA, Salimans MMM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen PME, Van der Noordaa J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 495-503.
- Wilson SM, McNeerney R, Nye PM, Godfrey-Faussett PD, Stoker NG, Voller A. Progress toward a simplified polymerase chain reaction and its application to diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1993; 4: 776-782.
- Querol JM, Farma MA, Granda D, Gimeno C, García de Lomas J. The utility of polymerase chain reaction (PCR) in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest* 1995; 107: 1.631-1.635.
- Lassence A, Lecossier D, Pierre C, Cadranet J, Stern M, Hance AJ. Detection of mycobacterial DNA in pleural fluid from patients with tuberculous pleurisy by means of the polymerase chain reaction: comparison of two protocols. *Thorax* 1992; 47: 265-269.
- Shankar P, Manjunath N, Mohan KK, Prasad K, Behari M, Shrinivas et al. Rapid diagnosis of tuberculous meningitis by polymerase chain reaction. *Lancet* 1991; 337: 5-7.
- Pierre C, Oliver C, Lecossier D, Boussougant Y, Yeni P, Hance AJ. Diagnosis of primary tuberculosis in children by amplification and detection of mycobacterial DNA. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 420-424.
- Delacourt D, Poveda JD, Chureau C, Beydon N, Mahut B, De Blic J et al. Use of polymerase chain reaction for improved diagnosis of tuberculosis in children. *J Pediatr* 1995; 126: 703-709.
- Glazer HS, Aronberg DJ, Sagel SS, Friedman PJ. CT demonstration of calcified mediastinal lymph nodes: A guide to the new ATS classification. *AJR* 1986; 147: 17-20.
- Delacourt C, Mamou Mani T, Bonnerot V, De Blic J, Sayed N, Lallemand D et al. Computed tomography with normal chest radiography in tuberculous infection. *Arch Dis Child* 1993; 69: 430-432.
- Pierre C, Lecossier D, Boussougant Y, Bocart D, Joly V, Yeni P et al. Use of a reamplification protocol improves sensitivity of detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples by amplification of DNA. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 712-717.
- Blic J, Azevedo I, Burren CP, Le Bourgeois M, Lallemand D, Scheinmann P. The value of flexible bronchoscopy in childhood pulmonary tuberculosis. *Chest* 1991; 100: 688-692.
- Stauffer F, Mutschlechner R, Hasenberger P, Stadlbauer S, Shinko H. Detection of *Mycobacterium tuberculosis complex* in clinical specimens by a commercial polymerase chain reaction kit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14: 1.046-1.051.
- American Thoracic Society. Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 1.359-1.374.
- Grupo de Trabajo sobre Tuberculosis. Consenso nacional para el control de la tuberculosis en España. *Med Clin (Barc)* 1992; 98: 24-31.
- Navarro V, Guix J, Juan G, Nieto A, Roig P, Salavert M et al. Tuberculosis pulmonar con radiografía de tórax normal e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1991; 9: 26-29.
- Ormerod LP. Chemotherapy and management of tuberculosis in the United Kingdom: recommendations of the Joint Tuberculosis Committee of the British Thoracic Society. *Thorax* 1990; 45: 403-408.
- American Academy of Pediatrics. Chemotherapy for tuberculosis in infants and children. *Pediatrics* 1992; 89: 161-165.
- Glassroth J, Bailey WC, Hopewell PC, Schechter G, Harden JW. Why tuberculosis is not prevented. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 1.236-1.240.
- Bloch AB, Cauthen GM, Onorato IM, Dansbury KG, Kelly GD, Driver CR et al. Nationwide survey of drug-resistant tuberculosis in the United States. *JAMA* 1994; 271: 665-671.
- Caminero JA. Situación actual de la tuberculosis en España. *Arch Bronconeumol* 1994; 30: 371-374.