

Universitatea “Lucian Blaga” Sibiu
Facultatea de Medicină “Victor Papilian”

**ASPECTE CLINICO-BIOLOGICE,
IMAGISTICE ȘI TERAPEUTICE ÎN
TUBERCULOZA MULTIDROGREZISTENTĂ**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducător științific:
Prof. Univ. Dr. MIRCEA DEAC**

**Doctorand:
MIRELA-ELENA MITREA**

SIBIU
2012

INTRODUCERE

Tuberculoza continuă să reprezinte o problemă prioritară de sănătate publică la scară mondială, datorită consecințelor negative asupra populației, a costurilor medicale și sociale, prin apariția unor forme tot mai severe de boală și dificil de tratat. Datele deloc optimiste publicate de Organizația Mondială a Sănătății (Raportul O.M.S. 2009) arată că aproximativ o treime din populația lumii este infectată cu M.tuberculosis, anual fiind semnalate peste 9 milioane de cazuri noi de îmbolnăvire și circa 2 milioane de decese. [14] , [55]

Tuberculoza multidrorezistentă (TB MDR) incită în ultimii ani tot mai mult lumea medicală, cu definirea începând din anul 2006 a formei extensive de chimiorezistență (XDR-extensive drug resistance), recent fiind propus și termenul de TB XXDR (extremely extensive drug resistance), cu rezistență la toate drogurile de linia I și a II-a. [7] [28]

Problematika luată în studiu este importantă atât din punct de vedere a incidenței afecțiunii, cât și a metodelor de diagnostic în scopul lansării unei terapii eficiente, fiind cunoscut deja faptul că o terapie instituită greșit induce dezvoltarea suplimentară a rezistenței.

Faptul că această afecțiune a înregistrat o recrudescență în ultimii ani arată că în ciuda progreselor evidente obținute în urma implementării prin Programul Național de Control al Tuberculozei (PNCT) a DOTS (Direct Observed Therapy Short-course) există încă anumite deficite în controlul eficient al metodelor de diagnostic și conduitei terapeutice. [5]

De asemenea se lansează tot mai insistent ideea utilizării de rutină pe lângă metodele clasice de diagnostic al bolii (microscopia și cultura pe medii solide) și a celor rapide de identificare a bacililor acido-alcoolo-rezistenți, precum Bactec sau PCR (Polimerase Chain Reaction). Deși considerate scumpe, avantajul acestor metode este acela de a oferi rezultate mult mai rapide, grăbind instituirea terapiei eficiente și reducând riscul eșecului terapeutic. [32] [39] [50] Pentru prevenirea extinderii formei de TB MDR, PNCT a elaborat, cu consultanța acordată de către Organizația Mondială a Sănătății (OMS), Planul Național de Prevenire și Management al TB MDR, pe termen mediu, începând din 2010 până în 2015, în scopul diagnosticării și tratării a cel puțin 80% dintre cazurile de TB până în anul 2015 și atingerea unei rate de succes terapeutic de 70% la cazurile noi și de 50% la cele de retratament. [12] [51] PNCT a făcut demersuri pentru introducerea în practică a metodelor de diagnostic rapid al TB. [44]

Evoluția în aria noastră geografică înspre forme tot mai frecvente și severe de TB MDR/XDR justifică studiul aprofundat al cazurilor bolnavilor TB MDR și al contactilor acestora, precum și evidențierea importanței folosirii de rutină a metodelor rapide de diagnostic în cazul bolnavilor de tuberculoză, suspecților TB sau contactilor din focare MDR.

Lucrarea de față cuprinde un număr de 185 pagini, fiind structurată în 10 capitole. În primele 3 capitole, care au aparținut părții generale, am sintetizat problematica tuberculozei la modul general și aspecte revelatoare de ordin epidemiologic, clinico-biologic, imagistic și terapeutic în tuberculoza multidrorezistentă, cu accent pe forma mult mai gravă, aceea de boală cu rezistență extinsă (TB XDR). Un capitol aparte l-am dedicat metodelor de detecție rapidă a micobacteriilor.

Următoarele 7 capitole au aparținut părții de cercetare personală, cu studiul privind tuberculoza MDR, respectiv XDR la pacienții internați în secția de ftiziologie și studiul metodei rapide de diagnostic Bactec MGIT 960.

SINTEZA PĂRȚII GENERALE

Capitolul I cuprinde generalități privind problematica tuberculozei, atacând aspecte de ordin epidemiologic, clinico-biologic, radio-imagistic și terapeutic ale bolii.

Datele epidemiologice au fost analizate atât la nivel mondial cât și național, din prisma indicatorilor epidemiologici (mortalitate, morbiditate, prevalență, incidență).

Incidența tuberculozei variază de la o țară la alta, în funcție de densitatea populației, distribuția geografică, calitatea și extensia Programului Național de Tuberculoză. Răspândirea TB în lume este foarte inegală (extremele fiind unele țări cu incidență de cazuri noi de 8-12‰, față de altele în care cifrele corespunzătoare sunt 400-600‰). [23]

Cea mai mare incidență a TB se înregistrează în Africa (270/100.000 locuitori), deși ca număr absolut de îmbolnăviri, Asia de Sud-Est și vestul Pacificului ocupă primul loc, datorită densității foarte mari a populației.[22] , [46] Actualmente chiar și în țările dezvoltate (Franța, Germania, țările nordice, Marea Britanie) a crescut incidența TB, ca urmare a imigrației clandestine, a flagelului HIV/SIDA (teren propice pentru dezvoltarea TB, prin alterarea imunității), sau prin focarele de infecție din marile orașe, frecventate de persoane sărace și bolnave. [41]

Tuberculoza este întâlnită la noi mai frecvent decât în alte țări europene: anual apar 130 de cazuri la 100.000 de locuitori, adică aproximativ 30.000 de bolnavi în toată țara (media europeană fiind de 30 la 100.000 de locuitori). [22] , [48] Anul 2003 a fost primul an în care s-a observat o stagnare în creșterea numărului de cazuri de tuberculoză. [37] Prin măsurile reglementate prin Programul Național de Control al Tuberculozei, ce asigură gratuit, pentru toată populația diagnosticul, tratamentul, monitorizarea și profilaxia bolii, incidența globală a continuat să scadă și în anii următori, anul 2010 reprezentând cel de-al 8-lea an consecutiv de

scădere a incidenței bolii. [47] , [48] , [55] Compararea valorilor incidențelor din anii menționați arată că scăderea cazurilor noi a fost mai importantă decât cea a recidivelor. [44]

Totuși conform OMS, România se situează încă printre țările care au cel mai ridicat nivel al incidenței tuberculozei în Europa. Comparativ cu țările Uniunii Europene (UE), în țara noastră se înregistrează încă cea **mai crescută incidență**, iar referitor la țările din Regiunea Europa a OMS, România ocupa în 2007 locul alVII-lea după Kazakhstan, Republica Moldova, Federația Rusă, Georgia, Kirghistan și Tajikistan. [14] , [44] , [57]

Ne-au interesat și aspectele privind factorii de risc mai frecvent implicați în declanșarea bolii: caracterul infecției, factori ereditari, vârsta, factorii de mediu, condițiile socio-economice defavorabile, factorul profesional, factori intrinseci precum asocierea infecției HIV, bolile pulmonare cronice, corticoterapia prelungită, diabetul zaharat, ulcerul gastro-duodenal, ciroza hepatică , boli maligne, infecții ce afectează imunitatea, bolile psihice cronice grave.

În capitolul II am sintetizat date cu privire la particularități legate de diagnosticare, monitorizare și tratament în TB MDR și în cea cu germeni cu rezistență extinsă. Începând din 1997, atunci când s-au raportat primele date globale cu privire la TB MDR, mesajele alarmante cu privire la influența negativă a rezistenței MDR asupra controlului tuberculozei în lume au crescut. [2] , [1] , [8] La nivel global 19% din tulpinile TB izolate au fost multidrogrezistente (MDR), iar 2% XDR (extensive drug resistance). [53]

În România în anul 2009 au fost înregistrate 668 de cazuri de TB MDR și 27 cu TB XDR, în condițiile în care dintre pacienții cu examene BK pozitiv în cultură au fost testați prin antibiogramă doar 35,6% dintre cei noi și 59,5% dintre cei la retratament. [48] , [58]

În România funcționează încă din 2004 cele 2 Centre de Excelență pentru tratarea TB MDR (Institutul Marius Nasta – cu o capacitate de 60 paturi și Bisericiani – 70 paturi), unde sunt tratate circa 30% dintre cazurile MDR, restul bolnavilor fiind preluați de rețeaua teritorială de specialitate. [15]

În ceea ce privește rezistența la terapia antituberculoasă, se clasifică astfel: **Monorezistența, Polirezistența, Multidrogrezistența – definită de OMS** ca tip specific de rezistență a M. tuberculosis (MT) cel puțin la Isoniazidă (H) și Rifampicină (R), cu sau fără rezistență la alte preparate antituberculoase. [47] , [55] **Rezistența extinsă** – reprezintă un subgrup de bacili TB MDR, definită ca rezistență la cel puțin H și R din preparatele antituberculoase de linia I (MDR-TB) cu rezistență suplimentară la toate fluorochinolonele și la cel puțin unul din trei preparate injectabile de linia a 2-a utilizate în tratamentul TB: kanamicina (K), amikacina și capreomicina. [17] , [55] , [56] **Rezistența super-extinsă** – termen recent propus, pentru cazurile cu rezistență la toate preparatele de linia I și a II-a, alfel zis “Tuberculoză incurabilă “. [18] , [49]

Încă nu există suficiente studii care să ateste un altgoritm eficient de prognoză al riscului de evoluție înspre rezistența de tip XDR. [59] Cu toate acestea, mai multe proiecte pilot au fost derulate în țări precum Coreea, Uzbekistan, Estonia, Rusia, țări cunoscute cu o recrudescență crescută a cazurilor de TB MDR și XDR, enunțându-se anumite corelații între statutul de TB XDR și date epidemiologice, paraclinice și de evoluție sub terapie. [16] , [30] , [35] Toate aceste studii au un numitor comun și întăresc aspecte evidențiate și în alte publicații similare, faptul că TB XDR are o semnificație clinică și de prognostic negativ, chiar și la pacienții cu profiluri diferite de sensibilitate și caracteristici diferite. [26] , [30] , [35]

Foarte important este tratamentul specific în cazurile MDR, în funcție de rezultatul antibiogramei extinse. Tratamentul este dificil, deoarece necesită utilizarea tuberculostaticeleor de linia 2, mai puțin eficiente și asociate adesea cu efecte secundare majore. Primele publicații despre răspunsul la tratamentul MDR-TB au raportat o mortalitate considerabilă, ajungând chiar la 37%. [16] , [31] , [54]

Dacă în mod normal un caz de tuberculoză se tratează timp de 2 luni cu terapie quadruplă și apoi încă 4 luni cu 2 din cele 4 droguri eficiente (HR), în cazul TB MDR se vor asocia suplimentar încă minim 2 droguri potente în urma analizei antibiogramei extinse, cu întocmirea unei scheme individualizate de tratament. Este utilizată medicația de a doua linie, respectiv, cea injectabilă, streptomycină (S) sau K, amikacina sau capreomicina asociate la fluorochinolone (FQ), etambutol (Em), ethionamide (Et) sau protionamida (Pt) pentru tulpinile TB rezistente la H și R. Cicloserina (Cs) este asociată cu acidul para-aminosalicilic (PAS) pentru tulpinile rezistente la Et, Pirazinamidă (P), la aminoglicozide, FQ, Et sau Pt. Durata minimă recomandată, în aceste cazuri este de 18 luni sau 18 luni de la negativarea culturilor pentru BK. [11] , [55] Durata poate fi ajustată pentru unii pacienți în funcție de răspunsul clinic și bacteriologic. În anumite cazuri particulare - pacienții cu silicoză, diabet zaharat, imagini radiologice de leziuni extinse, ritmul lent de conversie a sputei, rezistență la tulpina izolată, se încurajează prelungirea terapiei pentru 24 de luni. [53] , [55]

Deja începând cu anul 2008, OMS recomandă un program incluzând o gamă mai largă de chimioterapice cu acțiune antituberculoasă care a fost clasificat în 5 grupe, în ceea ce privește eficiența lor, cu avertismente cu privire la efectele secundare posibile de administrare a acestora. [42]

În cazul TB XDR tratamentul este și mai greu de instituit, datorită spectrului extins al rezistențelor. [47] După cum este de așteptat, fiind o parte a fiziologie recent definită, datele privind tratamentul TB XDR sunt mult mai sărace decât cele pentru pacienții cu TB MDR. [29] , [54] Se vor folosi medicamente din grupa E, precum amoxicilina-clavulanatului, clofazimin,

imipenem, linezolid și claritromicină, combinat, atunci când este adecvat, cu intervenția chirurgicală, utilizând fie intervenția clasică sau toracoscopia video-asistată, colaps-terapia - toracoplastia, sau pneumotoraxul artificial, cu scopul de a limita riscul de diseminare. [55]

Capitolul III abordează elemente de actualitate privind metodele moderne de diagnostic. Diagnosticul de laborator al tuberculozei în viitor va trebui să răspundă numeroaselor schimbări apărute atât în tabloul clinic al infecțiilor micobacteriene, cât și apariției din ce în ce mai frecvente a unor tulpini rezistente la medicația antituberculoasă majoră. [43]

Alături de metodele clasice de diagnostic (microscopia prin colorația Ziehl-Neelsen și cultura pe medii solide Löwenstein-Jensen), care constituie standardul de referință pentru izolarea Mycobacterium tuberculosis - MT, sunt tratate și descrise metodele rapide și moderne de detecție a MT. Saltul tehnologic recent a dus la introducerea mai multor metode rapide de diferențiere a sensibilității sau rezistenței tulpinilor de MT [1] , [3] , [6] , [7] , [60] Totuși datorită costurilor ridicate aceste metode nu sunt încă fezabile pentru toate laboratoarele, în special în țările în curs de dezvoltare, necesitând tehnologii specifice și personal special calificat. Majoritatea laboratoarele folosesc metodele clasice, mari consumatoare de timp. [43]

Metode rapide de diagnostic al tuberculozei accesibile la ora actuală la nivel mondial sunt: [20]

- Metode rapide de cultură folosind mediul lichid - sistemele **BACTEC** (Metoda Bactec 460 TB (Becton Dickinson) și Sistemul MGIT 960 (Mycobacteria Growth Indicator Tube), metode actualmente disponibile și în România, dar datorită costurilor ridicate, uzitate de foarte puține laboratoare. Cu ajutorul sistemului BACTEC MGIT 960 se pot face și testările sensibilității tulpinilor micobacteriene izolate la preparatele antituberculoase de linia 1 și 2. Rezultatul obținut scurtează termenul necesar metodei clasice pe medii solide cu cel puțin 10 până la 60 zile. [33]

- Metode chimice, cromatografice de analiză a acizilor micolici din peretele bacterian, ce permit identificarea de specie.

- Metodele genice reprezintă viitorul în diagnosticul micobacteriilor, fiind tehnici mai rapide și mai sensibile decât culturile, fiind deja uzitate în țările dezvoltate. [50] , [60] Prin sistemul PCR (Polymerase Chain Reaction) se poate obține amplificarea bacteriană (similar amplificării prin cultură) într-un timp scurt (30-40 minute). [50]

SINTEZA PĂRȚII SPECIALE

În debutul părții personale, am enunțat ipoteza de lucru, arătând care sunt direcțiile de cercetare (**capitolul I**), rezultatele acestora fiind prezentate în 7 capitole.

Obiectivele lucrării au constat în:

- Evaluarea datelor referitoare la cazurile declarate cu tuberculoză pulmonară MDR/XDR confirmate bacteriologic din lotul prospectiv studiat, compararea datelor la cazurile MDR cu un lot retrospectiv în perioada imediat premergătoare.
- Evidențierea anumitor caracteristici clinico-biologice, imagistice și terapeutice întâlnite la pacienții din loturile cercetate, întocmirea scorului de risc.
- Aprecierea rezultatelor tehnicilor de determinare rapidă tip BACTEC, comparativ cu metoda clasică pe mediul Löwenstein-Jensen și întocmirea unei scheme de selecție a pacienților testați pe BACTEC.

Lucrarea cuprinde două studii distincte, care au avut același **scop**: monitorizarea și evaluarea cazurilor de tuberculoză, în speță tuberculoza cu germeni multidrogrezistenți, cu scopul eficientizării metodelor de diagnostic și terapeutice.

Am dorit prin această teză să evidențiez inclusiv aspectele particulare pe care le implică TB MDR în rândul contactilor TB și al pacienților cu boli anergizante cronice asociate, precum și identificarea anumitor factori de risc ce ar putea induce starea de TB XDR.

Primul studiu a urmărit cazurile a 104 pacienți diagnosticați cu tuberculoză multidrogrezistentă, studiate în două perioade diferite: studiul prospectiv și cel retrospectiv, cu evaluarea în dinamică a modificărilor de natură epidemiologică, clinico-biologică și terapeutică survenite. În cadrul lotului prospectiv am evaluat cazurile de TB XDR și anumiți factori de risc determinanți în inducerea acestei forme de tuberculoză mai nou definite. Analizând factorii de risc frecvent implicați am stabilit o schemă de lucru ca metodă necesară pentru selecția pacienților în scopul includerii în lotul prospectiv al studiului 2. **Al doilea studiu** și-a propus să evalueze avantajele utilizării de rutină a metodei Bactec MGIT în scopul eficientizării metodei de diagnostic și a îmbunătățirii calității actului terapeutic.

La finalul celor două studii, partea de concluzii generale a fost abordată unitar, într-un singur capitol.

Prelucrarea statistică a datelor rezultate din analiza documentelor medicale înregistrate, tehnicilor cu viză diagnostică efectuate bolnavilor și din evaluarea tratamentului aplicat s-a efectuat cu ajutorul unor programe computerizate de gestionare și organizare a datelor, acestea fiind prezentate sub formă de tabele și figuri, ca expresie grafică.

1. Studiul pacienților cu tuberculoză MDR/XDR

Lotul A – prospectiv a fost selectat din rândul celor 1012 pacienți confirmați microscopic și la culturi cu tuberculoză, internați în Spitalul de Pneumoftiziologie Sibiu în perioada ianuarie 2006 – decembrie 2010. Au fost incluși în studiu 59 pacienți cu tuberculoză pulmonară MDR/XDR, selectați după anumite criterii de includere (examene microscopice și prin culturi pozitive, cu efectuarea a minim unei antibiografe extinse de control).

Lotul B – retrospectiv, 45 de pacienți cu TB MDR întrunind aceleași condiții ca în lotul A, internați în perioada imediat premergătoare, 1999-2005.

Atenția ne-am canalizat-o în lotul A pe cazurile TB XDR, patologie mai puțin studiată, terminologia fiind relativ recent introdusă, începând cu anul 2006. Deoarece ne-a interesat în mod deosebit includerea în studiul prospectiv a cazurilor XDR, au fost excluși din lot pacienții care aveau efectuate doar examenul microscopic fără evaluarea periodică prin culturi și antibiograma extinsă, aceștia neputând fi corect evaluați ca făcând parte din definiția TB XDR. Au mai fost excluși din studiu pacienții prezentând alergii cunoscute la a doua linie de medicație anti-TB, tulburări convulsive necontrolate, boli psihice semnificative, ciroză hepatică sau alte stadii terminale de boală cu speranța de viață mai mică decât durata tratamentului. Pacienții care pe parcursul studiului nu au mai putut fi urmăriți, care au fost declarați mutați sau pierduți au fost de asemenea excluși, pentru o mai bună acuratețe a datelor evolutive.

Au fost incluși pacienții evaluați periodic conform protocoalelor terapeutice elaborate în cadrul Programului Național de Control al Tuberculozei și cărora li s-a administrat tratament tuberculostatic sub directă observație.

Pentru fiecare bolnav din lotul prospectiv s-au completat în fișa personală de observație aceleași categorii de date care au fost consemnate și la pacienții lotului retrospectiv.

Cele două loturi au fost testate din punctul de vedere al echivalenței pe parametri: vârsta, sexul, mediul de viață, ocupația, aspecte clinice, bacteriologice, biologice, radiologice, apoi s-a făcut o analiză descriptivă a modului în care diferiți parametri (de investigație, terapie și evoluție) au influențat rezultatele de etapă și finale ale bolnavilor.

REZULTATE:

În capitolul II am analizat inițial situația tuturor cazurilor de tuberculoză internate în Spitalul de Pneumoftiziologie Sibiu în perioada studiului prospectiv (ianuarie 2006-decembrie 2010).

Datele generale afirmă că în România în perioada 2002-2009 incidența globală a **scăzut cu 29.8%**, cu o rată anuală de scădere de 4,2%. [14] , [44] , [57]

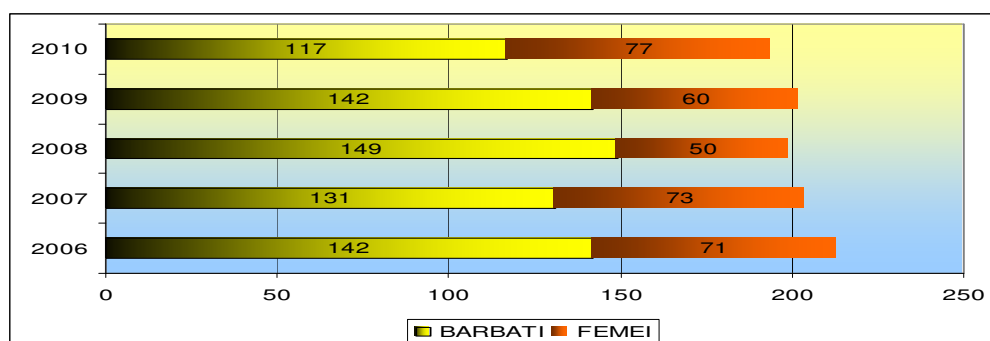
Și în clinica noastră constatăm un trend constant descendent al cazurilor de tuberculoză, cu excepția anului 2009, ceea ce concordă cu datele actuale optimiste, în mare parte datorită eficientizării sistemului de control prin programul PNCT.

◆ Tabel I Repartiția pe ani a cazurilor de tuberculoză în perioada 2006-2010

Anul	barbati	femei	Total pacienți
2010	117	77	194
2009	142	60	202
2008	149	50	199
2007	131	73	204
2006	142	71	213
TOTAL	681	331	1012

Pe întreaga perioadă a studiului prospectiv s-au internat cu diagnosticul de tuberculoză un număr de 1012 pacienți, raportul pe genuri prezentându-se astfel: 681 pacienți de gen masculin (reprezentând procentual 67,3%) și 331 pacienți de gen feminin (adică un procent de 32,7%). Se menține afectarea mai frecventă a genului masculin, cu un raport sex ratio de 2,05:1, în concordanță cu datele evidențiate la nivel global (2,24:1 în România în 2002). [14]

◆ Fig. 1 Repartiția pe ani și gen a tuturor cazurilor de tuberculoză internate în perioada 2006-2010



În România, incidența TB este mai mare la bărbați și la grupele de vârstă 25-29 ani până la 60-64 ani. [38] , [44]

Raportat la vârstă, din totalul celor 1012 pacienți internați în perioada 2006-2010 cu TB, incidența maximă a frecvenței cazurilor s-a înregistrat la grupa de vârstă tânără (35-44 ani), la maximul activității sociale, din acest punct de vedere încadrându-ne statistic în rândul țărilor în curs de dezvoltare.

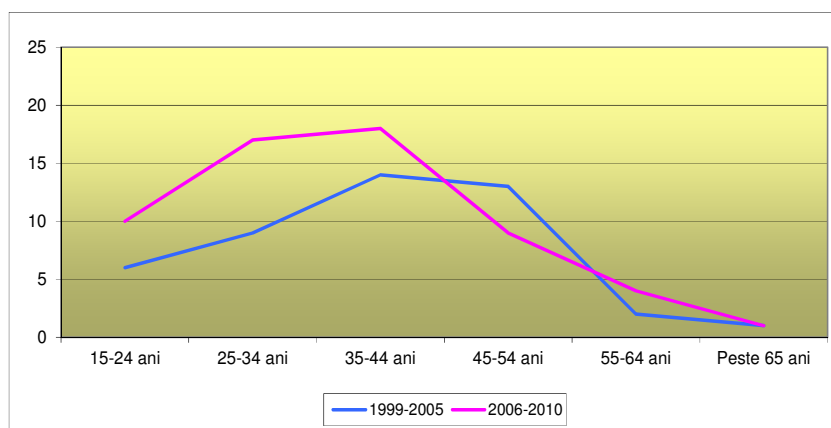
În subcapitolul 2.1. am analizat datele demografice în loturile TB MDR studiate.

Tabel nr. II Caracteristici de bază în loturile studiate – date demografice

Caracteristici	2006-2010	1999-2005
Vârsta (ani) medie de diagnostic a TB	33,27	34,2
Vârsta (ani) medie de diagnostic a MDR	37,18	39,2
Vârsta (ani) medie de diagnostic a TB XDR	34	/
Gen masculin	38	28
Gen feminin	21	17
Sex ratio (Male/Female)	1,81	1,64
Mediu urban	33	26
Mediu rural	26	19
Aria (Urban/Rural)	1,27	1,36
Total pacienți	59	45

Comparând cele 2 loturi, distingem un număr crescut al diagnosticării TB MDR la o vârstă mult mai tânără în cadrul lotului prospectiv (Fig. 2), ceea ce poate sugera mai multe aspecte: eficientizarea anchetei epidemiologice în ultimii ani, cu creșterea ratei de detecție a cazurilor de TB MDR [11] , [14] , [15] , [21], controlul mai riguros al cazurilor prin antibiogramă extinsă sau acești pacienți s-au contaminat mai degrabă în mediul intrafamiliar sau în urma contactului cu pacientul TB MDR.

◆ Fig. 2 Repartiția în funcție de grupa de vârstă în momentul diagnosticului TB MDR pulmonare comparativ între loturi în perioada 1999-2005 și 2006-2010



Observăm un aspect încurajator, trendul evident descendent al numărului cazurilor noi (CN) din totalul cazurilor MDR, date care concordă statistic și cu cele din studiile de specialitate. În schimb, crește alarmant rezistența primară MDR la cazurile noi (procentual de

27,11% din total în 2006-2010 față de 13,33% în perioada 1999-2005)., iar rezistența secundară se instalează mult mai rapid.

În ceea ce privește situația în rândul contacților TB MDR, din studiul nostru rezultă că tot mai mulți pacienți se contaminatează în mediul familial, cu predominanța contacților MDR în mediul urban în ambele perioade studiate, cu creșterea numărului acestora în lotul A. Este deja cunoscut faptul că în aria geografică studiată există adevărate focare intrafamiliale TB și chiar TB MDR sau XDR, surse nesecate de recontaminare cu germeni rezistenți. În concluzie majoritatea contacților proveneau din Sibiu, situându-se în lotul prospectiv la 35,71% (10 pacienți din total 28 contacți în 2006-2010). Un al doilea focar ce merită discutat este cel de la Cisnădie (25% din contacți în cadrul studiului prospectiv).

Deoarece anumite localități ale Sibiului au atras atenția în mod evident privind sursele de contaminare, am raportat cazurile de focar și la numărul de locuitori în aceste localități, rezultatele arătând un procent mare al riscului de contaminare în comunitate în localitățile Cisnădie și Avrig.

În subcapitolul 3 am analizat repartiția cazurilor în lotul A în funcție de nivelul de școlarizare, spectrul social și asocierea factorilor de risc.

Statusul de fumător este un factor de prognostic negativ atât pentru TB MDR cât și pentru XDR. Alcoolismul cronic este în același timp o problemă medicală cât și socio-economică, fiind deseori întâlnit la bolnavii de TB cronici, necooperanți, cu numeroase eșecuri la tratament, deseori chimiorezistenți, prezentând forme clinice avansate, neglijate, grave. În lotul A, consumul de alcool a fost prezent în procent ridicat în rândul cazurilor MDR (57,62%), fără a fi însă mai pregnant în lotul XDR. În ceea ce privește factorii de risc asociați, în lotul A 32,2% dintre pacienți aveau asociate toate cele 3 tare: fumat, consum de alcool și statutul de caz social, ceea ce pledează pentru o complianță scăzută la tratament și risc crescut de abandon terapeutic. Nivelul de școlarizare scăzut este, de asemenea, un factor de prognostic negativ.

În capitolul III am analizat antecedentele heredocolaterale, antecedentele personale patologice, condiții de viață și muncă, examenul clinic la pacienții MDR și XDR.

Centralizând informațiile, deducem preponderența comorbidităților în sfera aparatului respirator, urmată de afecțiunile cardio-vasculare, digestive, afecțiuni psihiatrice, diabetul zaharat. Infecțiile respiratorii frecvente au favorizat declanșarea bolii, cele mai frecvente fiind bronșitele cronice acutizate și pneumoniile recidivante, cu mai mult de 3 episoade pe an.

Motivele internării în lotul studiat nu au diferit substanțial față de manifestările clasice descrise la tuberculoza pulmonară, sindromul de impregnație bacilară fiind însă obiectivat la un număr substanțial de cazuri (78%). S-a constatat totuși un număr ridicat de cazuri cu hemoptizie

la debut (25,4%), debut atipic sau cu simptomatologie complet absentă. Hemoptizia la momentul diagnosticului tuberculozei pulmonare este frecventă la pacienții care dezvoltă ulterior rezistență TB XDR.

Tabel III Manifestări clinice și examenul obiectiv în tuberculoza pulmonară MDR la momentul diagnosticului tuberculozei în lotul A

Motivul internării și examenul obiectiv la debut	Total TB MDR (%)	Cazuri TB XDR (%)	Cazuri TB Non-XDR (%)	Rezistență primară TB MDR (%)
Total pacienți	59 (100)	11 (18,64)	48 (81,35)	23 (38,98)
Sindrom de impregnare bacilară	46 (78,0)	9 (81,8)	37 (77,1)	16 (69,6)
Infecții respiratorii persistente	11 (18,6)	2 (18,2)	9 (18,8)	2 (8,7)
Debut prin hemoptizie	15 (25,4)	4 (36,4)	11 (22,9)	6 (26,1)
Debut brusc	18 (30,5)	2 (18,2)	16 (33,3)	9(39,1)
Debut atipic	12 (20,33)	2 (18,18)	10 (20,83)	7 (30,43)
Pneumonie la debut	9 (15,3)	0 (0,00)	9 (18,8)	5 (21,7)
Piopneumotorax	1 (1,7)	0 (0,00)	1 (2,1)	1 (4,3)
Manifestări digestive	4 (6,8)	2 (18,2)	2 (4,2)	1 (4,3)
Amenoree	2 (3,4)	0 (0,00)	2 (4,2)	1 (4,3)
Asimptomatic depistat întâmplător	4 (6,8)	2 (18,2)	2 (4,2)	2 (8,7)
Indexul de masă corporală *	19,91±4,01	19,16±3,39	20,03±4,08	/
Tegumente palide	41 (69,5)	9 (81,8)	32 (66,7)	18 (78,3)
Torace astenic	36 (61,0)	8 (72,7)	28 (58,3)	14 (60,9)
Torace rahitic	8 (13,6)	3 (27,3)	5 (10,4)	2 (8,7)
Tensiunea arterială**	114,59/68,2 ±20,46/10,53	106,67/67,78 ±15,0/9,72	116,38/68,38± 21,36/10/76	/
Alura ventriculară***	89,5±21,70	78,44±3,33	92,37±22,43	/
Contact TB	28 (47,5)	8 (72,7)	20 (41,7)	16 (69,6)
Contact TB MDR	11 (18,6)	2 (18,2)	9 (18,8)	8 (34,8)

Notă: Datele reprezintă numărul pacienților sau media valorilor împreună cu deviația standard DS± pe care am utilizat-o în cazul indicelui de masă corporală, a tensiunii arteriale sau a alurii ventriculare

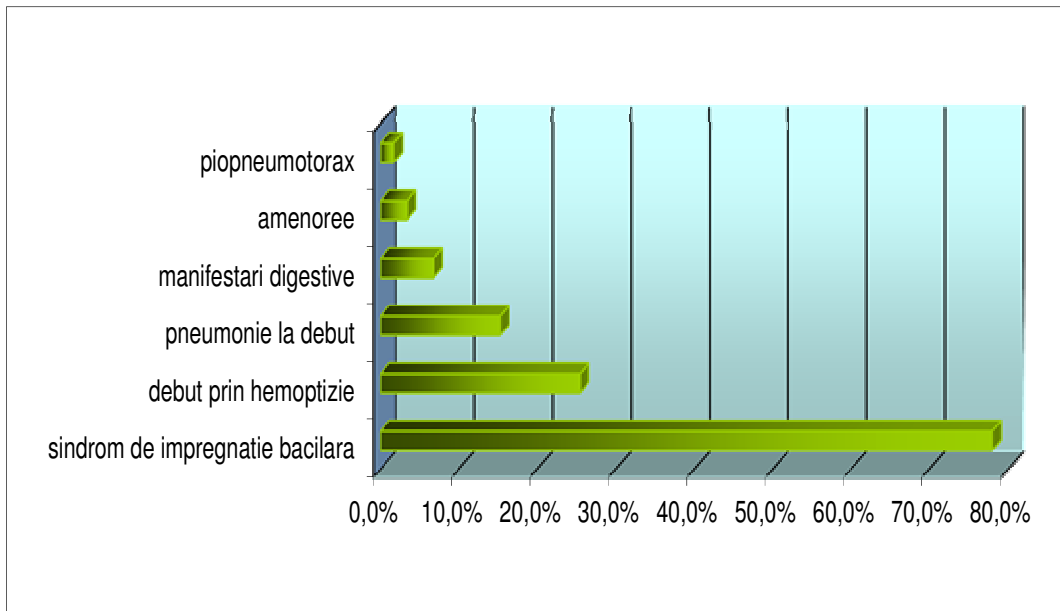
*indicele de masă corporală măsurat în kg/m²

**tensiunea arterială măsurată în mmHg

*** alura ventriculară măsurată în bătăi/min

O proporție importantă dintre pacienții cu TB XDR au avut indice de masă corporală scăzut la debutul tuberculozei pulmonare.

Fig. 3 Semne și simptome clinice la data diagnosticului tuberculozei pulmonare



Debut brusc prin alte manifestări asociate (pneumonie, pneumotorax, manifestări digestive precum scaune diareice sau epigastralgii, amenoree) au prezentat un procent semnificativ de 30,5% dintre pacienții TB MDR, fiind mai pregnant în lotul Non-TB XDR (33,3%).

Capitolul IV este consacrat aspectelor biologice și radioimagingice la bolnavii cu tuberculoză MDR și XDR. La pacienții investigați cele mai severe manifestări biologice au fost anemia și hipoalbuminemia. În general anemia este normocromă, normocitară dar poate fi în unele cazuri hipocromă microcitară (în cazurile coinfecției TB-HIV determinate de depresia imună din cadrul infecției HIV). [38] În ceea ce privește anemia, se delimitează în lotul nostru o tendință certă spre limita inferioară la cazurile TB XDR (media hemoglobinei 11,88 g/dl) față de TB Non-XDR cu media de 15,39 g/dl.

Hipoalbuminemia este în general considerată ca un marker al stării de nutriție sărace la pacienții cu TB [35]. Studii anterioare au arătat că hipoalbuminemia prin malnutriție de proteine în sine ar putea afecta imunitatea gazdei împotriva *Mycobacterium tuberculosis* prin scăderea producției de citokine, inclusiv a IFN- γ , sau de reducere a limfocitelor CD4 și CD8 observate pe modele animale [89]. Unele studii afirmă că un nivel mai ridicat de albumine este invers proporțional cu eșecul tratamentului la pacienții cu XDR-TB. [35] , [40]

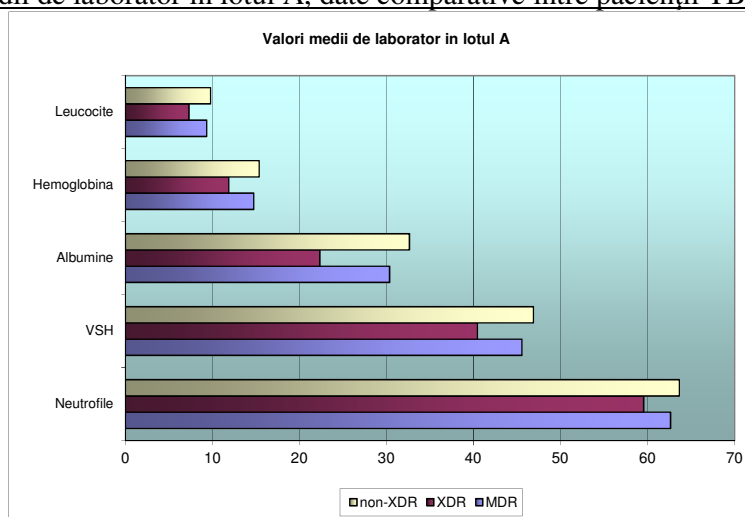
Tabel IV Caracteristicile de bază ale pacienților din lotul A prospectiv - date paraclinice

CARACTERISTICI	MDR	XDR	NON-XDR
Toți pacienții	59	11	48
VSH	45,57±31,56	40,45±34,94	46,90±30,93
Leucocite	9,34±2,26	7,32±2,25	9,79±2,09
Neutrofile	62,65±16,69	59,55±13,59	63,44±17,44
Limfocite	24,06±9,73	23,50±7,91	24,20±10,22
Trombocite	348,67±153,00	339,00±145,06	351,36±151,70
Hemoglobină	14,77±10,95	11,88±2,67	15,39±11,94
Hematocrit	39,30±7,76	38,77±8,21	39,43±7,73
Proteine totale	66,24±11,40	68,27±4,98	65,63±5,96
Albumine	30,37±13,16	22,35±4,03	32,66±14,47
Raport albumine/globuline	0,82±0,39	0,47±0,07	0,93±0,39
Glicemie	86,79±16,21	85,80±12,56	87,14±17,74

Notă: cifrele reprezintă valorile medii și deviația standard aferentă

În studiul nostru, nivelul de albumine la momentul diagnosticului TB MDR a fost evident mai scăzut la lotul care a dezvoltat TB XDR față de Non XDR (media 22,35 g/l la cazurile TB XDR față de 32,66 g/l la TB Non-XDR). Valorile sunt mai scăzute chiar și decât în studii similare.[35] Constatăm că media este mai scăzută decât media valorii normale (în laboratorul nostru fiind 38,5 g/l), atât la cazurile TB XDR cât și la Non-XDR, hipoalbuminemia putând astfel influența nefavorabil evoluția bolii.

Fig. 4 Valori medii de laborator în lotul A, date comparative între pacienții TB XDR/Non-XDR



În ceea ce privește aspectul radioimagic la pacienții cu TB MDR și XDR și factorii de predicție negativi (subcapitolul 2), în lotul A, formele de tuberculoză extensiv cavitară bilaterală au o frecvență mai mare în rezistența XDR comparativ cu rezistența MDR.

La pacienții cu complicații, acestea afectează în măsură asemănătoare pacienții XDR și non XDR, dar frecvența acestora este ridicată. Procentul cumulat de 47,45 (total cazuri MDR cu forme complicate în evoluție) merită evidențiat, deoarece aproape jumătate din cazurile MDR au evoluat în timp înspre o formă complicată mai mult sau mai puțin gravă. Se constată din totalul

formelor soldate cu complicații o pondere semnificativă a contactului în focar TB (46% dintre cei 28 contacti în focar TB).

Aspectele topografice particulare sunt mai frecvente la bolnavii care dezvoltă rezistență TB XDR. De asemenea, în rândul celor 15 pacienți având forme particulare topografice, un procentaj semnificativ de 40% respectiv 33,3% au prezentat condiția de contact în focar TB sau au fost diagnosticați cu rezistență primară de tip TB MDR.

Capitolul V expune problematica tratamentului și evaluarea pacienților MDR.

Din totalul celor 1012 pacienți internați cu diagnosticul de tuberculoză, un număr reprezentativ de 725 îl constituiau cazurile noi (71,6%). Ne-au mai atras atenția recidivele cu un procentaj de 17,1 % și numărul relativ scăzut de cazuri cronice 29 cazuri (2,9%). Pacienții au fost clasificați după categoriile PNCT. [11] , [17]

Tabel V Clasificarea cazurilor TB și TB MDR pulmonară în funcție de criteriile PNCT

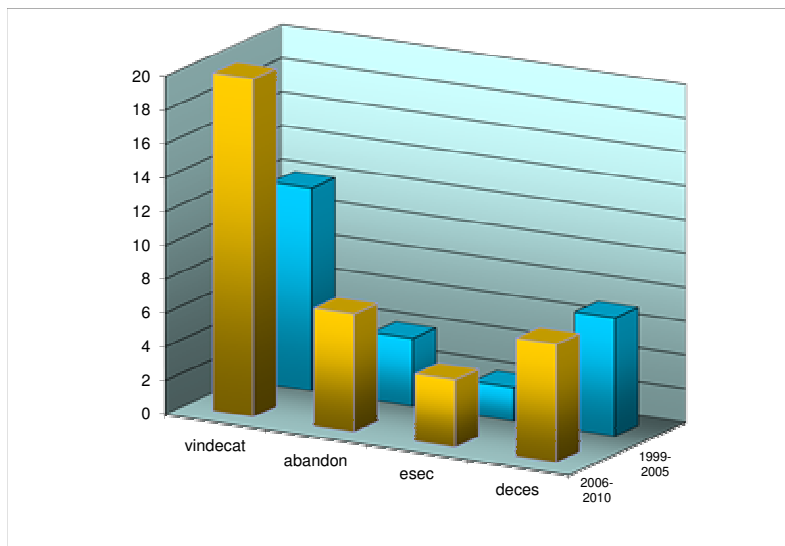
Caracteristici	Cazuri noi	Recidive	Retratament după eșec	Retratament după abandon	Cronici	Total	Număr total pacienți
Toți pacienții TB 2006-2010	71,8%	17,1%	3,62%	4,7%	2,8%	100%	1012
Lotul A MDR	42,8%	23,7%	15,2%	6,8%	11,9%	100%	59
Lotul B MDR	68,9%	6,6%	6,4%	8,9%	11,1%	100%	45

În loturile noastre situația s-a prezentat comparativ astfel: constatăm **scăderea procentuală a cazurilor noi MDR** în perioada 2006-2010, dar în același timp **creșterea recidivelor** (corelabilă cu situația tuturor pacienților TB internați în perioada similară). Situația este oarecum comparabilă cu cea a pacienților MDR internați în Centrul de excelență MDR Bisericani în perioada 2004-2006, cu un procent crescut de recidive (40%) și scăzut de cronici (22%) și invers proporțional cu situația Centrului de Excelență București (17% recidive și 47,7% cronici). [30] Numărul cazurilor cronice este însă discrepant față de alte studii, în loturile noastre depășind cu puțin 11%, față de minim 20% în alte publicații. [30] Totuși datele sunt concordante cu procentul redus de 2,8% cazuri cronice la toți pacienții TB internați în clinica noastră în perioada 2006-2010.

În ceea ce privește evaluarea cazului MDR [11] , [17], rezultatele terapeutice sunt încurajatoare. Astfel în lotul A s-au încadrat la capitolul **vindecați** 33,9% din totalul pacienților, procentual reprezentând o creștere față de 22,7% în lotul B retrospectiv, ceea ce arată o bună funcționare a programului DOTS. În lotul A rata **abandonurilor** a fost mai scăzută, probabil datorită unei mai bune managerieri și urmăririi a cazurilor prin îmbunătățirea programelor de control al tuberculozei. Rata **deceselor** în lotul A (prospectiv), scade procentual la 11,8% față de

perioada premergătoare (15,5%). Datele sunt comparabile cu cele naționale. În anul 2009 datele oficiale la nivel național privind evaluarea pacienților TB MDR evidențiau o rată de 31% cazuri vindecate, 26% decese și doar 11% cazuri de abandon. [17]

Fig. 5 Comparații între loturile A și B în funcție de evaluarea cazului TB MDR



La **cazurile noi (CN)** situația se prezintă chiar mai optimist: 40% dintre pacienți (10 cazuri din 25 CN) s-au vindecat în perioada 2006-2010 față de 25,8% (8 pacienți din 31 CN în 1999-2005).

În ceea ce privește instalarea rezistenței în timp a terapiei antituberculoase nu apar modificări spectaculoase între cele 2 loturi, dar merită discutate câteva aspecte: procentul cel mai ridicat de rezistență la prima internare se situează la Isoniazidă (H) și la Rifampicină (R). Este cunoscut faptul că **rezistența la R este evaluată ca un predictor al TB MDR**. [15]

Tabel VI Spectrul instalării rezistențelor la medicația antituberculoasă în evoluție

Denumire medicație	99-05 la internare	99-05 diagnostic MDR	99-05 în evoluție	06-10 la internare	06-10 diagnostic MDR	06-10 în evoluție
H	13,3%	100,0%	100,0%	32,2%	100,0%	100,0%
R	13,3%	100,0%	100,0%	30,5%	100,0%	100,0%
S	4,4%	24,4%	42,2%	8,5%	23,7%	44,1%
Em	2,2%	11,1%	37,8%	1,7%	10,2%	39,0%
K	2,2%	8,9%	24,4%	3,4%	6,8%	25,4%
FQ	2,2%	6,7%	26,7%	1,7%	5,1%	23,7%
Ofx	2,2%	6,7%	24,4%	1,7%	5,1%	22,0%
Et	0,0%	0,0%	17,8%	0,0%	0,0%	15,3%
P	0,0%	2,2%	6,7%	0,0%	1,7%	3,4%
Cs	2,2%	2,2%	4,4%	1,7%	1,7%	3,4%
PAS	0,0%	0,0%	4,4%	0,0%	0,0%	3,4%
Cpx	0,0%	0,0%	2,2%	0,0%	0,0%	1,7%
Pt	2,2%	2,2%	2,2%	1,7%	1,7%	1,7%

În ordinea instituirii rezistențelor, pe primele 3 locuri se situează rezistența H, R sau S (Streptomicină), monorezistența la H sau S constituind poarta principală de achiziție a rezistențelor adiționale. [15]

Rezistența la cazurile XDR în ordine descrescătoare a fost semnalată la H, R, S, Ofloxacină (Ofx), Kanamicină (K), Em, Et, Ciprofloxacina (Cpx), Cicloserină (Cs), Pirazinamidă (P), și PAS.

În ceea ce privește asocierea rezistențelor la momentul diagnosticului MDR, observăm tendința de diversificare a MDR, fapt atestat la nivel național și în studiile internaționale, cu un spectru tot mai larg al rezistenței la terapia tuberculostatică. [15] , [16] , [17] , [35]

Tabel VII Spectrul rezistenței la momentul MDR, date comparative între loturi

PATTERN REZISTENTE	Sibiu 99-05	Sibiu 06-10
HR	100,0%	100,0%
HRS	42,2%	44,1%
HREm	37,8%	39,0%
HRSEm	28,9%	30,5%
HRK	24,4%	25,4%
HRKEm	15,6%	18,6%
HROfx	24,4%	22,0%
HRKOfx	15,6%	15,3%
HROfxEm	15,6%	15,3%
HRSOfx	13,3%	13,6%
HRSK	13,3%	15,3%
HRSKEm	11,1%	15,3%
HRSKOfx	8,9%	10,2%
HRSKOfxE	8,9%	10,2%
HRPEm	2,2%	0,0%
HRSP	2,2%	0,0%
HREt	17,8%	15,3%

Asocierea rezistenței HRS atrage după sine creșterea rezistențelor la FQ, Em, K și Et, fapt ce ar putea conduce la creșterea riscului dezvoltării rezistenței XDR, susținut și de faptul că în lotul A 72,7% dintre cei 11 pacienți care au dezvoltat rezistență XDR, aveau rezistență asociată HRS.

Fig. 6 Evoluția rezistenței în timp la terapia antituberculoasă în lotul A

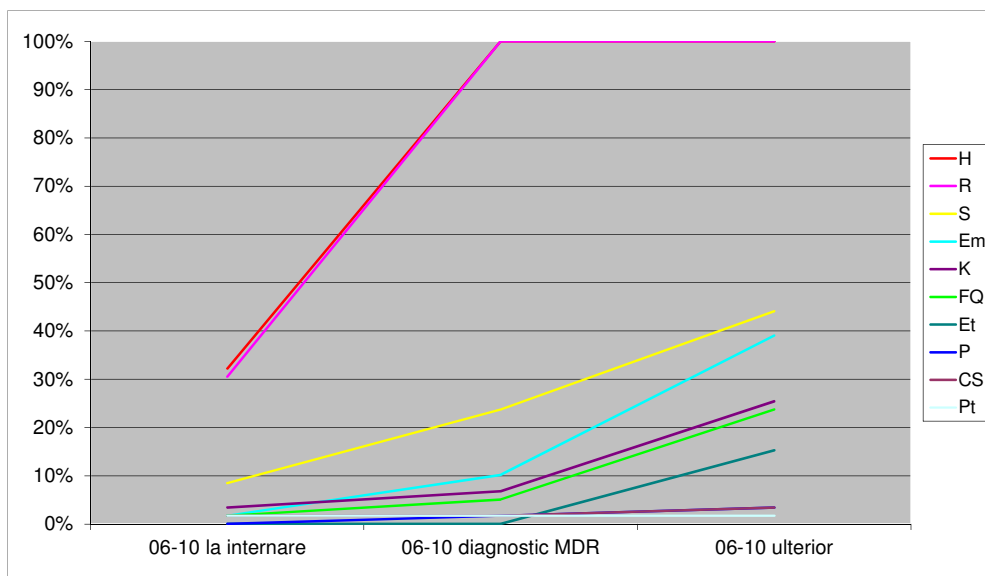
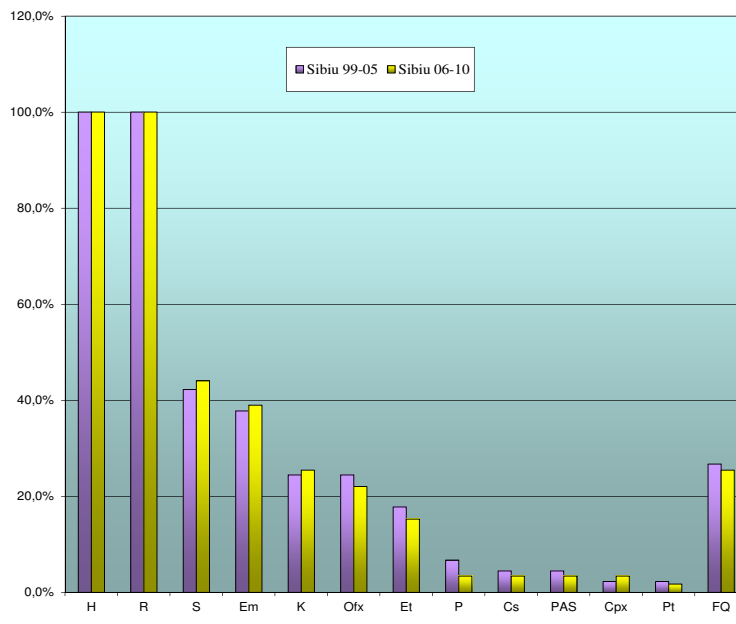


Fig. 7 Rata rezistenței la tuberculostatice conform antibiogramei extinse în cele 2 perioade studiate



În total rezistența la Fluoroquinolone (FQ) s-a ridicat la un procent semnificativ de 26,7% în perioada 1999-2005, fiind dominată de rezistența la Ofloxacină (24,4% din totalul cazurilor MDR). Pozitiv este faptul că rata rezistenței la FQ a scăzut în perioada imediat următoare (2006-2010) tocmai pe seama acestui preparat la 25,4%, probabil și datorită apelurilor tot mai insistente lansate privind uzitarea excesivă a acestor antibiotice, cu luarea măsurilor de reducere a administrării intempestive acestor droguri în orice infecție banală.

Capitolul VI este destinat evaluării scorului de risc. Am utilizat informațiile din studiul prospectiv și date din literatură privind ponderea factorilor de risc în apariția tuberculozei și a TB MDR. În calcularea scorului de risc au fost incluși 10 parametri (factori de risc extrinseci, intrinseci, aspect radio-imagistic, date biochimice etc.), cu întocmirea unui model de fișă electronică a scorului de risc. Calcularea scorului de risc TB evidențiază un procentaj mai mare de 60% la cei cu TB MDR. Acesta a fost gândit ca un instrument ajutător de selecție rapidă a cazurilor cu risc crescut, la care se justifică evaluarea periodică prin BACTEC.

Capitolul VII abordează aplicarea metodei de diagnostic BACTEC. În studiul retrospectiv tehnica BACTEC a avut o sensibilitate mai mare decât mediul Löwenstein-Jensen sau microscopia. Și în ceea ce privește viteza pozitivării probelor, BACTEC și-a dovedit superioritatea. În lotul prospectiv există asociați numeroși factori de risc. Este un proiect pilot de testare pe mediile BACTEC, în desfășurare.

2. Studiul BACTEC

SCOP Susținerea asocierii metodei BACTEC MGIT 960 pentru îmbunătățirea monitorizării pacientului TB sau TB MDR și pentru identificarea precoce a cazurilor noi TB.

MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul cazuistic a fost alcătuit din 2 loturi:

- 1. Lotul B1- studiul BACTEC retrospectiv**
- 2. Lotul B2 - studiul BACTEC prospectiv**

Studiul Bactec retrospectiv a reprezentat o analiză retrospectivă în rândul pacienților internați în perioada 1999-2000 cu simptomatologie sugestivă fezabilă cu diagnosticul de TB pulmonară, cărora li s-a efectuat în paralel un număr variabil de probe prin însămânțarea sputelor pe mediul solid Löwenstein-Jensen (LJ) și lichid Middelbrook. Criteriile de selecție au constat în prezența unor simptome sugestive pentru TB (sidromul de impregnație bacilară), fiind incluse în studiul nostru cazurile celor 153 pacienți confirmați cu diagnosticul de TB pulmonară.

Datele bacteriologice au fost colectate din registrele de evidență ale spitalului pentru microscopie și culturi (mediu solid și lichid). Am comparat datele și am evidențiat anumite aspecte practice.

În cadrul studiului Bactec prospectiv am demarat un proiect pilot după anumite criterii de includere, proiect care se află încă în lucru, datele preliminare obținute din examinarea sputelor primului lot de 30 pacienți fiind expuse în această lucrare. Pentru selecția anumitor pacienți am avut nevoie de modelul fișei electronice a scorului de risc, elaborate și expuse în

capitolul VI. Acest model de fișă este deocamdată experimental, el nefiind introdus în baza de date a spitalului.

Am elaborat mai multe **criterii de includere pentru testarea prin metoda BACTEC:**

1. **Cazurile noi cu suspiciune clinică, biologică și radiologică de TB** al căror examen direct era negativ și care aveau culturi în lucru. În acest context, metoda BACTEC și cultura pe mediul lichid Middelbrook ar putea orienta decizia terapeutică înaintea obținerii rezultatului culturii pe mediul solid.
2. **Cazurile noi TB, confirmate la microscopie și cultură**, care după 2 luni de tratament DOTS-plus au ieșit încă pozitive la examenul microscopic. Examenul pozitiv la examenul direct poate evidenția bacilii morți, care apar încă pe lamă, cultura în aceste cazuri putând fi însă negativă. În aceste cazuri BACTEC ar elucida situația înaintea parvenirii rezultatului culturii pe medii solide, orientând decizia terapeutică.
3. **Cazurile cu TB/TB MDR pulmonară în tratament negative la examenul microscopic** aflate în cursul evaluării intermediare pentru monitorizarea conversiei culturii. Scopul este de a obține un rezultat mai rapid la culturi decât cel pe medii solide.
4. **Cazurile TB MDR pulmonară în tratament pozitive la microscopie** în cursul evaluării intermediare, pentru urgentarea deciziei terapeutice.
5. **Contactii în focare TB sau TB MDR cu suspiciune clinică și paraclinică mare**, negativi la microscopie și care nu au fost încă evaluați prin cultura pe medii solide. Și în aceste situații rezultatul rapid obținut la cultura pe mediul Middelbrook ar orienta diagnosticul și abordarea terapeutică a cazului și ar reduce durata spitalizării.

METODA

S-au efectuat următoarele examinări:

- **microscopia directă**
- **însămânțare pe mediul solid Löwenstein-Jensen**
- **însămânțare pe mediul lichid Middelbrook** folosind tehnica fluorimetrică BACTEC

MGIT 960 (Mycobacteria Growth Indicator Tube).

Etapele de prelucrare după semnalarea creșterii microbiene sunt aceleași cu cele din cultura clasică: confirmarea microscopică a prezenței BAAR, identificarea micobacteriilor, antibiograma. Pentru fiecare probă clinică, au fost preparate 2 spute, una directă și una concentrată după procesarea prin metoda NALC (N-acetyl-L-cysteine). Probele obținute au fost inoculate în eprubete pe mediul Lowenstein-Jensen (LJ) și în sistemul BACTEC MGIT 960 (mediul Middelbrook). În cazurile incerte s-a recoltat spută și s-a însămânțat din nou.

În cazul culturilor pe medii convenționale LJ s-au făcut citiri săptămânal timp de 8 săptămâni, iar în cazul culturilor BACTEC citirea s-a făcut zilnic în primele 4 săptămâni, iar apoi săptămânal până în săptămâna 6.

Am întocmit o fișă de cercetare, cuprinzând caracteristicile demografice (mediul de proveniență, vârsta, genul), factorii de risc asociați, comorbidități, simptomatologie, examen obiectiv, date paraclinice și rezultatele obținute la culturi prin metoda standard pe mediul LJ și metoda Bactec pe mediul Middelbrock.

Prelucrarea statistică a datelor rezultate din analiza documentelor medicale înregistrate s-a efectuat cu ajutorul unui program computerizat (EXCEL, ACCESS, SQL), datele fiind, de asemenea, prezentate tabelar și grafic pentru o mai bună înțelegere a lor.

REZULTATE

Am inclus în **studiul retrospectiv (B1)** 307 produse patologice prelucrate din sputa celor 153 pacienți cu suspiciune clinică înaltă de tuberculoză, confirmați prin culturi. În cadrul lotului au fost incluși 118 pacienți de gen masculin (77,12%) și 35 pacienți de gen feminin (22,88%).

Analiza s-a efectuat după excluderea probelor contaminate la culturi, adică 12 (3,6%) probe la BACTEC și 9 (2,7%) pe mediul LJ din totalul de 328 spute incluse inițial în studiu.

Tabel VIII Rata de pozitivare comparativ între medii, inclusiv microscopia directă la cazurile suspectate și confirmate cu tuberculoză pulmonară

Caracteristici	Nr. probe	Rezultat pozitiv	Rezultat negativ	Procent probe pozitive
Microscopia directă	307	136	201	44,29%
Mediul LJ	307	223	84	72,63%
BACTEC	307	228	79	74,26%

În studiul nostru mediul LJ a evidențiat 223 probe ca fiind pozitive, iar BACTEC a recunoscut 228. Sensitivitatea superioară a BACTEC concordă cu datele furnizate de alte studii [45], [50]. Am comparat în cadrul lotului ales și rezultatele la microscopie directă, pozitivându-se 136 (57,38%) probe.

În cazul nostru, timpul de obținere a culturilor pozitive a fost pentru mediul LJ de 35 zile, iar pentru sistemul BACTEC MGIT 960 media la 12 zile.

Cultivarea în sistemul BACTEC MGIT 960 ne-a permis să confirmăm prin cultură tuberculoza în medie cu 20,9 zile mai repede decât timpul realizat la cultivarea în mediul LJ.

Din totalul probelor pozitive la BACTEC, un procent de 25,87% (59 probe din 228) s-a pozitivat sub 4 zile, date chiar mai optimiste decât cele generale (media generală 4 - 25 zile). [14], [18], [25]

În lotul prospectiv (B2) constatăm la aproape jumătate dintre pacienți (46,67%) asocierea a minim 3 factori de risc (alcool, fumat, condiții de viață precare sau homeless), ceea ce conduce deseori la avantajarea apariției tuberculozei sau chiar la abandon, eșec al terapiei, cu riscul dezvoltării rezistențelor secundare.

Folosindu-ne de calculul scorului de risc și de criteriile de includere în studiul Bactec prospectiv, cei 30 de pacienți s-au distribuit astfel în grupe, conform tabelului IX.

Tabel IX Pacienții lotului B2 conform criteriilor de includere

CRITERII DE INCLUDERE	Număr pacienți
Suspiciune clinico-paraclinică M-	5
CN TB în tratament la evaluare M+	3
TB în tratament M-	10
TB sau TB MDR în tratament, M+	6
Contact în focar cu suspiciune mare M-	6
Total pacienți	30

În ceea ce privește eficiența folosirii BACTEC, aceasta se arată în special utilă în cursul evaluării periodice la cazurile TB/TB MDR, oferind un rezultat pozitiv mult mai rapid decât cultura.

Utilitatea BACTEC se evidențiază și la cazurile pozitive la microscopie (bacili morți), negative la BACTEC și culturi, rezultatul prin BACTEC orientând mai rapid decizia terapeutică.

De asemenea, BACTEC se arată foarte util în cazurile de contact în focar cu suspiciune TB, dând rezultatul pozitiv mult mai rapid (în 2 respectiv 9 zile), în cazul nostru recunoscând 33,3% din cazurile de contact în focar cu suspiciune TB negativă la microscopie.

CONCLUZII

În prima parte a cercetării personale au fost analizate cazurile la 104 pacienți. Am realizat un studiu observațional prospectiv pe un lot de 59 pacienți (lotul A) diagnosticați cu tuberculoză (TB) pulmonară forma multidrogrezistentă, internați în Spitalul de Pneumoftiziologie Sibiu în perioada 2006-2010. Am urmărit anumite aspecte de ordin epidemiologic, clinic, biologic, imagistic și terapeutic, insistând asupra unor caracteristici și factori de risc preponderenți. Datele obținute le-am comparat în anumite situații cu un lot martor (lotul B) de 45 pacienți, ales în perioada imediat premergătoare (1999-2005).

A doua parte a tezei face referire la studiul BACTEC retrospectiv (lotul B1) și prospectiv (lotul B2) , cu date ce susțin aplicarea acestei metode în anumite cazuri selectate după criterii de includere elaborate. Am calculat un scor de risc orientativ pentru selecția rapidă a pacienților fezabili de evaluare prin metoda BACTEC, pe care l-am aplicat la cazurile din lotul prospectiv BACTEC (lotul B2), acest scor neavând însă valoare diagnostică sau prognostică.

1. În lotul A au predominat pacienții din mediul urban (55,93%), cele mai multe persoane fiind de gen masculin (64,41%), cu un raport sex ratio de 1,81.
2. Grupa de vârstă este cea tânără, la maximumul activității sociale, migrația în categoriile respective de vârstă fiind sporită, aspect des întâlnit în țările în curs de dezvoltare. Cel mai bine reprezentată la cazurile TB MDR a fost grupa de vârstă 25-44 ani (59,32% din cazurile MDR internate în perioada 2006-2010), mult mai tânără decât vârsta de diagnosticare în lotul retrospectiv (35-55 ani).
3. Scăderea mediei de vârstă se face mai degrabă pe seama cazurilor noi(CN) MDR, cifrele fiind comparabile cu datele generale [45] , [52] media de vârstă scăzând în decursul perioadelor succesiv studiate de la 35,54 ani în lotul retrospectiv, la 31,2 ani în lotul A la cazurile noi.
4. Față de datele din literatură predomină bolnavii din mediul urban. Deoarece anumite localități ale Sibiului au atras atenția în mod evident privind sursele de contaminare, am raportat cazurile de focar și la numărul de locuitori în aceste localități, rezultatele arătând un procent mare al riscului de contaminare în comunitate atât în Sibiu, cât și în localitățile Cisnădie și Avrig, aici existând adevărate focare de TB MDR.
5. Statutul de fumător, nivelul de școlarizare scăzut și statutul socio-economic precar pot fi factori de prognostic negativ pentru dezvoltarea multidrogezistenței. Consumul de alcool a fost prezent în procent ridicat în rândul cazurilor MDR (57,62%).
6. Antecedentele heredo-colaterale au jucat un rol foarte important, statutul de contact în focar TB în procent cumulativ la toți pacienții TB MDR fiind de 47,5%, fiind chiar mai ridicat la cazurile XDR (63,6% din cazurile TB XDR). Procentajul contaminării intrafamiliale la toate cazurile TB MDR relevă date mai ridicate decât cele publicate în alte studii internaționale, și a crescut comparativ cu perioada premergătoare studiată.
7. Studiul evidențiază un risc mai mare raportat la întreg lotul TB MDR la cazurile cu infecții repetate BPOC, afecțiuni cardio-vasculare sau digestive cronice. Nu a relevat însă vreo concordanță între vreo afecțiune comorbidă și risc mai mare de a dezvolta TB XDR. Afecțiunile cronice anergizante asociate, precum infecția HIV, diabetul zaharat, neoplaziile, infecțiile

respiratorii recidivante pot favoriza declanșarea bolii, aportul lor nefavorabil în declanșarea TB fiind deja cunoscut [15] , [35]

8. Referitor la motivele internării, prezența sindromului de impregnație bacilară și a hemoptiziei cresc suspiciunea de TB, cu toate că nu sunt factori specifici. În lotul nostru s-a constatat un număr ridicat de 78% dintre pacienți cu sindrom de impregnare bacilară, fiind succedat în ordinea descrescătoare a frecvenței de hemoptizie (25,4%), infecțiile respiratorii persistente (18,6%) și pneumonii (15,3%). Pacienții care au dezvoltat ulterior rezistență TB XDR au avut la momentul diagnosticului tuberculozei pulmonare un procentaj mai ridicat al hemoptiziei (36,4%),

9. Sindromul complet de condensare este reprezentativ, fiind prezent într-un procent de 49,2% din totalul cazurilor MDR (29 pacienți) și la 54,% din cele 11 cazuri care au dezvoltat ulterior rezistență XDR.

10. Indicele de masă corporală (IMC) scăzut l-am considerat factor de risc negativ pentru XDR (neinclus ca factor de risc în alte studii) [16] , [35], 36,4% dintre aceștia având un IMC sub 19 și 18,2% sub 15 kg/m². Aceste valori pot fi interpretate și sub aspectul denutriției și al condițiilor precare socio-economice la acești pacienți.

11. În privința investigațiilor paraclinice, studiul nostru a evidențiat câțiva factori potențiali de risc negativ pentru MDR dar îndeosebi pentru TB XDR, precum hipoalbuminemia și cavitația bilaterală. Studii internaționale afirmă că un nivel mai ridicat de albumine este invers proporțional cu eșecul tratamentului la pacienții cu TB XDR. [35] , [40] În acest context hipoalbuminemia ar putea fi considerată un factor de prognostic negativ la cazurile TB MDR, acest aspect influențând nefavorabil evoluția sub tratament în aceste situații. În studiul nostru la lotul A în urma investigațiilor radiologice a reieșit predominanța netă a formelor de tuberculoză extensiv cavitară bilaterală în rândul cazurilor prezentând rezistență de tip XDR față de cei cu rezistență MDR. Acest aspect poate fi chiar un factor de predicție negativ pentru dezvoltarea rezistenței de tip XDR.

12. De asemenea, în lotul A în rândul celor 15 pacienți având forme particulare topografice, un procentaj semnificativ de 40% respectiv 33,3% au prezentat condiția de contact în focar TB sau au fost diagnosticați cu rezistență primară de tip TB MDR.

13. Procentul cumulat de 47,45 (total cazuri MDR cu forme complicate în evoluție) merită evidențiat, deoarece aproape jumătate din cazurile MDR în lotul A au evoluat în timp înspre o formă complicată.

14. Am constatat scăderea procentuală a cazurilor noi MDR în perioada 2006-2010, un fapt încurajator, ținând cont că acesta este un indicator important al bunei funcționări a PNCT. De asemenea, în lotul A rata abandonurilor a fost mai scăzută, probabil unei mai bune managerieri și

urmării a cazurilor prin îmbunătățirea programelor de control al tuberculozei. În același timp constatăm însă în lotul A creșterea recidivelor și a eșecurilor, ceea ce poate duce la creșterea rezistenței secundare MDR.

15. Din punct de vedere al evaluării periodice al cazului TB, în lotul studiat prospectiv procentul vindecărilor este semnificativ mai mare față de lotul comparativ iar numărul deceselor se reduce. În lotul A rata vindecărilor crește de la 22,7% la 33,9% iar cea a deceselor scade procentual la 11,8% față de perioada premergătoare (15,5%). Toate aceste aspecte sugerează îmbunătățirea aplicării programului DOTS-plus în perioada 2006-2010.

16. În ordinea instituirii rezistențelor, pe primele 3 locuri se situează rezistența H, R sau S, monorezistența la H sau S constituind poarta principală de atragere a rezistențelor adiționale.

17. În ambele loturi studiate, rezistența HRS este predominantă. În studiul nostru, asocierea rezistenței HRS atrage după sine creșterea rezistențelor la Etambutol, Fluoroquinolone, Kanamicină și Etionamidă, această asociere nefavorabilă putând conduce în timp la dezvoltarea TB XDR, susținut și de faptul că în lotul A 72,7% dintre cei 11 pacienți care au dezvoltat rezistență XDR, prezentau rezistență asociată HRS.

18. Rezistența la Fluoroquinolone (FQ) rămâne încă ridicată (25,4%), fiind dominată de rezistența la Ofloxacină, însă aceasta a scăzut tocmai pe seama acestui preparat în lotul A, probabil și datorită inițierii măsurilor de reducere a administrării intempestive acestor droguri în orice infecție banală.

19. În studiul retrospectiv BACTEC (B1) din prisma recunoașterii probelor pozitive, metoda a avut cea mai mare sensibilitate în lotul studiat, comparativ cu mediul solid Löwenstein-Jensen sau cu rezultatul microscopiei.

20. În ceea ce privește viteza pozitivării probelor, BACTEC MGIT 960 își dovedește superioritatea, fiind capabil să detecteze speciemenle pozitive în medie la 12(\pm 11) zile, față de media de 35(\pm 9) zile pe mediul Löwenstein-Jensen. Cultivarea în sistemul BACTEC MGIT 960 ne-a permis să confirmăm prin cultură tuberculoza în medie cu 20,9 zile mai repede decât timpul realizat la cultivarea pe mediul LJ.

21. În 25,87% BACTEC a fost capabil să detecteze MT în mai puțin de 4 zile, la 18,42% din 228 probe rezultatul pozitivându-se doar după 1 zi. Acest aspecte ar trebui să încurajeze utilizarea acesteia pentru evaluarea anumitor cazuri de TB/TB MDR sau în diagnosticul de rutină în cazurile cu suspiciune înaltă de TB, îndeosebi la contactii TB.

22. În lotul BACTEC prospectiv (B2) în ceea ce privește eficiența folosirii metodei, aceasta se arată în special utilă la cazurile TB/TB MDR, aflate în tratament în fazele de evaluare periodică a cazului TB, clarificând mai rapid starea bacteriologică a pacientului decât cultura pe mediu

Löwenstein- Jensen, putând fi de un real folos prin urgentarea deciziei terapeutice și eficientizarea terapiei.

23. Utilitatea BACTEC se evidențiază și la cazurile pozitive la microscopie (bacili morți), negative la BACTEC și culturi, rezultatul prin BACTEC orientând mai rapid decizia terapeutică.

24. De asemenea, o atenție sporită merită acordată cazurilor contactilor în focar cu suspiciune clinico-paraclinică înaltă de TB, (destul de numeroase în arealul nostru), oferind posibilitatea identificării mult mai rapide a TB.

25. Studiul BACTEC susține un fapt real, acela că metoda, momentan considerată costisitoare, poate duce în timp la creșterea procentului și rapidității de confirmare bacteriologică la pacienții cu tuberculoză pulmonară și indirect la reducerea costurilor, prin evaluarea rapidă a cazurilor cronice și implicit eficientizarea terapiei și prin îmbunătățirea detecției cazurilor noi TB, cu creșterea speranței de viață și a calității vieții pacientului.

26. Desigur că deocamdată metoda de referință pentru diagnosticul TB rămâne cultura pe mediul solid, dar aceasta are marele dezavantaj al intervalul mare de timp necesar pentru a obține un rezultat pozitiv (circa 4-8 săptămâni), ceea ce în contextul actual al dezvoltării alarmante a TB multidrogrezistente, și mai ales prin creșterea cazurilor XDR, augmentează deficitul acesteia. În acest context, implementarea unor sisteme de detecție rapidă a multiplicării micobacteriei realizează scurtarea duratei de diagnostic cu două-trei săptămâni și chiar mai mult, sistemul BACTEC MGIT 960 putând orienta decizia terapeutică înaintea obținerii rezultatului culturii pe mediul solid.

27. În concluzie, rezultatele studiului confirmă datele din literatura de specialitate privind gravitatea și actualitatea problemei tuberculozei multidrogrezistente, mai ales prin forma ei mai nou definită, aceea de tuberculoză cu rezistență extinsă și aduc informații importante cu privire la factorii de risc pentru TB XDR. În aceste condiții, se face necesară, pe lângă buna manageriere a controlului și terapiei bolii prin buna aplicare a strategiei PNCT, implementarea unor metode rapide de detecție a MT, acestea nemaiconstituind un lux, ci o necesitate.

Rezultatele acestui studiu vin să completeze concluziile unor studii mai largi efectuate în populația generală și să atingă anumite puncte nevralgice și actuale, aducându-se contribuții personale cu caracter de originalitate sau care confirmă datele din literatura privind subiectul abordat.

Cuvinte cheie – tuberculoza multidrogrezistentă, tuberculoza cu rezistență extinsă, factori de risc, metoda BACTEC

LISTA DE ABREVIERI

BPOC – bronhopneumopatia cronică obstructivă
CN – caz nou
Cpx - Ciprofloxacina
Cs – Cicloserina
DOTS - Directly Observed Treatment Short-course
Em – Etambutol
Et – Ethionamida
FQ - Fluoroquinolone
H – Isoniazidă
IDR – intradermoreacție
IFN – interferon
K – Kanamicina
LJ - Löwenstein Jensen
MGIT - Mycobacteria Growth Indicator Tube
MT - Mycobacterium Tuberculosis
NALC - N-acetyl-Lcysteine
Ofx - Ofloxacin
OMS - Organizația Mondială a Sănătății
P – Pirazinamida
PAS – acid paraaminosalicilic
PCR - Polymerase Chain Reaction
PNCT - Programul Național de Control al Tuberculozei
Pt - Protionamida
R – Rifampicină
S - Streptomycină
TB - tuberculoza
TB MDR - Tuberculoza multidrogezistentă
VSH – viteza de sedimentare a hematiilor
XDR - extensive drug resistance
XXDR- extremely extensive drug resistance
ZN – Ziehl Neelsen

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Affolabi D, Odoun M, Martin A, Palomino J C, Anagonou S, Portaels F – Evaluation of direct detection of Mycobacterium tuberculosis rifampin resistance by a nitrate reductase assay applied to sputum samples in Cotonou, Benin. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 2123–2125.
2. Aziz MA, Wright A, Laszlo A, De Muynck A, Portaels F, et al. Epidemiology of antituberculosis drug resistance (The Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance): an update analysis. *Lancet* 2006; 368: 2142-2154.
3. Bailey W.C., Gerald L.B., Kimerling M.E. et al.- Predictive model to identify positive tuberculosis skin test results during contact investigation. *JAMA*, 2002;287:996-1002.
4. Bastian I., Rigouts L., Van Deun A., Portaels F.- DOTS strategy and MDRTB: are any modification required *Bull. WHO* 2000; 78:238-243.
5. Bastian, I., L. Rigouts, J. C. Palomino, and F. Portaels. Kanamycin susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis using Mycobacterium Growth Indicator Tube and a colorimetric method. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45: 1934-1936.
6. B. Dagmar R, Tyagi S, Kappe R. Performance of a IS6110 based PCR assay and the COBAS amplicor MTB PCR system for detection of *M.tuberculosis* complex DNA in human lymph node samples. *J Clin Microbiol* 2002;40:3089-3092.
7. Blondal K., Barriers to reaching the targets for tuberculosis control: multidrug resistant tuberculosis. *Bull World Health Organ* 2007, 85:387-390.
8. Blower SM, Chou T - Modeling the emergence of the “hot zones”: tuberculosis and the amplification dynamics of drug resistance. *Nat Med.*2004; 10: 1111-1116.
9. Buga A., Cotici A., Vorobjit V., Crudu V., Dinamica spectrului de rezistență a tulpinilor de Mycobacterium tuberculosis, izolate în anii 2003-2008 în Republica Moldova, Abstract 2008; 53-56 <http://ezamsha.dev.asm.md>
10. Calciu M.- Mutații clinico-epidemiologice ale tuberculozei copilului In ultimele 5 decenii (1950- 2000), *Pneumologia* 2002; LI: 206-213.
11. Casandra Câț, Domnica Chiotan, Cristian Didilescu et al., Îndrumător de supraveghere epidemiologică a tuberculozei și de monitorizare a aplicării Programului Național de Control al Tuberculozei, România, 2005; 34-57.
12. Colebunders R., Lambert M.L.- Management of coinfection with HIV and TB. *BMJ*, 2002;324: 802-803.
13. Combate R., Dalisey C.- Use of immunocromatographic test in the rapid diagnosis of pulmonary TB. *Chest* 2001; 120: 322.
14. Constantin Duță, Teză de doctorat, Rezumat, Considerații clinice, bacteriologice și epidemiologice în tuberculoza pulmonară paucibacilară, Craiova 2010; 3-32.
15. Constantin Marica, Mihaela Tănăsescu, Prof. Asoc. Dr. Cristian Didilescu, Domnica Chiotan, Mara Popescu-Hagen, Tuberculoza multidrog rezistentă în Romania în ultimii ani (2004-2007) un fenomen social de maximă importanță, *Revista Medicală Română –* 2009; I VI, (4): 315-319.
16. Cox HS, Kalon S, Allamuratova S, Sizaire V, Tigay ZN, et al. Multidrug-Resistant Tuberculosis Treatment Outcomes in Karakalpakstan, Uzbekistan: Treatment Complexity and XDR-TB among Treatment Failures. *PloS ONE*, 2007; 2 (11): 2 1126. doi: 10.1371/journal.pone.0001126
17. Cristina Popa, Provocări actuale în controlul TB MDR în România, Programul Național de Control al Tuberculozei, 21 martie 2011; 2-21 http://www.fondulglobal.ro/plain/files/ghid_suprav_epidl.pdf
18. Crudu V. Supravegherea rezistenței antituberculoase Republica Moldova- anul 2008// Studiul Național. Chișinău, 2008. http://cnms.md/_files/10935-Raport_anual_TB_2008.pdf

19. Didilescu C, Marica C(sub red) -Tuberculoza trecut, prezent și viitor. Ed.Universitară „Carol Davilla”, București, 2004.
20. Didilescu C., Nicolaescu O. – Tuberculoza pulmonară. Ghid de diagnostic și tratament, București 2001.
21. Diraa O, Fdany K, Boudouma M, Flmdaghri N, Benbachir M- Int J Tuberc Lung Dis 2003;7(10):1010-1012.
22. Direcția de sănătate publică a municipiului București. Raport de activitate privind datele centralizate ale rețelei de tuberculoza din Bucuresti din anul 2009 [www.dsb.ro-raport – activitate-2010.pdf](http://www.dsb.ro-raport-activitate-2010.pdf)
23. Dragoș Bumbăcea, Lucica Dițiu, Claudia Toma, Cornelia Tudose, Implementarea strategiei DOTS de control a tuberculozei în România. Tuberculoza. Curs pentru studenți, România 2005; 6-45 <https://docs.google.com/www.oammr-galati.ro/Data/Content/Legislatie/PDF>
24. Durand F, Pessayre D, Fournier M, et al. - Antituberculous Therapy and acute liver failure. Lancet, 1995; 245: 1070-1072.
25. Ecaterina Stratan, Valentina Vorobjbit, Alexandru Cotici, Nicolai Moraru, Metode moderne de diagnostic de laborator și testarea sensibilitatii mycobacterium tuberculosis, utilizate in laboratorul national de referință, AIHA Moldova 2008, <http://ezamsha.dev.asm.md>
26. Eker B, Ortmann J, Migliori GB, Sotgiu G, Muetterlein R, Centis R, Hoffmann H, Kirsten D, Schaberg T, Ruesch-Gerdes S, Lange C; German TBNET Group. Multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis, Germany. Emerg Infect Dis. 2008; 14(11):1700-1706.
27. Erkens CG, Kamphorst M, Abubakar I, Bothamley GH, Chemtob D, Haas W, Migliori GB, Rieder HL, Zellweger JP, Lange C. Tuberculosis contact investigation in low prevalence countries: a European consensus. Eur Respir J. 2010; 36(4):925-949.
28. Extensively drug resistant tuberculosis United States, 1993 2006. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2007; 56:250.
29. Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. Lancet 2006;368:1575-80.
30. Giovanni Battista Migliori, Christoph Lange, Enrico Girardi, Rosella Centis, Giorgio Besozzi, Kai Kliiman Extensively Drug-Resistant Tuberculosis Is Worse than Multidrug-Resistant Tuberculosis, 2007; cid.oxfordjournals.org/content/45/10/129
31. Goble M, Iseman MD, Madsen LA, Waite D, Ackerson L, Horsburgh CR Jr. Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to isoniazid and rifampin. N Engl J Med 1993;328:527-32.
32. Homorodean D, Moldovan O, Diculencu D, Chiriac G, Muntean I –Îndrumar de tehnici de laborator de bacteriologie BK, elaborat sub coordonarea PNCT, București, 2005; 5-52.
33. Homorodean Daniela, Folosirea sistemelor automate pentru cultivarea și semnalarea creșterii micobacteriilor, Săptămâna medicală (supliment medical), 2009;11-12, <http://www.saptamanamedicala.ro>
34. Kaul, K. L. Molecular detection of Mycobacterium tuberculosis: impact on patient care. Clin. Chem. 2001; 47:1553-1558.
35. Kim et al (2007) Impact of Extensive Drug Resistance on Treatment Outcomes in Non-HIV-Infected Patients with Multidrug-Resistant Tuberculosis, Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Department of Internal Medicine and Lung Institute, Seoul, Republic of Korea, Clin Infect Dis. 2007; 45 (10): 1290-1295, <http://cid.oxfordjournals.org/search>
36. Leung CC, Rieder HL, Lange C, et al. Treatment of latent infection with Mycobacterium tuberculosis: update 2010. Eur Respir J 2011; 37: 690–711.

37. Macri A., Moldovan O., Olar V., Hristea A., Leonte D., Paraschiv S.,-Ghid De Diagnostic Al Tuberculozei , Editura MATRIX ROM, București 2006; 15-71.
38. Marinela Gabor, Teză de doctorat, Aspecte clinico-biologice, radiologice și terapeutice în tuberculoza pulmonară a copiilor cu infecția HIV-SIDA, Tg. Mureș 2005; 14-86
39. Martin, A., H. Takiff, P. Vandamme, J. Swings, J. C. Palomino, and F. Portaels. A new rapid and simple colorimetric method to detect pyrazinamide resistance in Mycobacterium tuberculosis using nicotinamide. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006; 58:327-331.
40. Mc Murray DN, Mainali ES. Protein deficiency induces alteration in the distribution of T cell subsets in experimental pulmonar tuberculosis. *Infect Immun* 1998; 66: 927- 931
41. Monica Pop: Incidența cazurilor de tuberculoză, în continuare mare în România în raport cu țările din UE, <http://www.romedic.ro/prof-carmen-monica-pop-incidenta-cazurilor-de-tuberculoza-in-continutare-mare-in-romania-in-raport-cu-0N17613>
42. NIAID Tuberculosis Working Group NIAID research agenda: multi-drug-resistant and extensively-drug-resistant-tuberculosis; <http://www3.niaid.nih.gov/topics/tuberculosis/Research/pdf/MDRDXDRTB>
43. Parissa Farnia, Mohammad Reza Masjedi, Colorimetric Detection of Multidrug-Resistant or Extensively Drug-Resistant Tuberculosis by Use of Malachite Green Indicator Dye, *J Clin Microbiol.* February 2008; 46(2): 796–799.
44. Parteneriatul Stop TB, Împotriva tuberculozei, mai mult, mai bine, mai repede. Tuberculoza sub microscopul presei, 24.03.2010, www.tbnews.ro/download.php
45. Pfyffer GE, Welscher HM, Kissling P, Cieslak C, Casal MJ, Gutierrez J, Gerdes SR. Comparison of the Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) with radiometric and solid culture for recovery of Acid fast bacilli. *J Clin Microbiol* 1997;**35**:364-368.
46. Popescu M., Stoicescu I.P., Didilescu C.- Pneumologie clinică- Editura Universității „Lucian Blaga” Sibiu, 1999; 3: 5-35
47. Programul Național de Control și Profilaxie a Tuberculozei (PNCPT) pentru anii 2006–2010, aprobat prin Hotărârea Guvernului RM nr. 1409, http://www.ms.gov.md/_files/2493-nota%2520info.pdf
48. România, locul 4 în europa după numărul de bolnavi de tuberculoză (14iulie 2011), [www.doctorionline.ro/romania locul 4 in europa](http://www.doctorionline.ro/romania%20locul%204%20in%20europa)
49. Spiegelman MK. New tuberculosis therapeutics: a growing pipeline. *J Infect Dis* 2007; 196 (Suppl 1): 28-34
50. SS Negi, Sfb Khan, S Gupta, S Pasha, S Khare, et al. - Comparison of the conventional diagnostic modalities, BACTEC culture and Polymerase Chain Reaction test for diagnosis of tuberculosis, *Indian Journal of Medical Microbiology*, 2005; 23 (1):29-33, www.ijmm.org
51. Strategia națională de informare-educare-comunicare pentru controlul tuberculozei, București 2008, www.tbnews.ro/download.php.article
52. Takahashi H, Foster V. Detection and recovery of mycobacteria by a radiometric procedure. *J Clin Microb* 1983;**117**:380-381.
53. The tuberculosis X-Factor, *The Lancet Infectious Diseases* 2006; 6: 679
54. Victoria Bîrluțiu, HIV associated to extrapulmonary tuberculosis (affecting the mesenteric lymph nodes and kidney- case presentation), *Therapeutics Pharmacology and Clinical Toxicology*, Sept. 2008; XII, Nr. 3: 452- 455
55. Victoria Bîrluțiu, Mirela Mitrea, New strategies for the treatment of tuberculosis, *Therapeutics Pharmacology and Clinical Toxicology*, Vol. XII, Nr. 4, Decembrie 2009, 373-377
56. WHO. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing; WHO report 2008; <http://www.who.int/tb/publications/globalreport/2008/pdf/fullreport.pdf>
57. WHO - Treatment of tuberculosis: guidelines for national programes. Third Edition, 2003

58. WHO warnt vor Tuberkulose- Zeitbombe- eine Therapie wird zunehmend schwieriger, aprilie2009; www.spiegel.de/wissenschaft/mensch/0,1518,616759,00.html
59. World Health Organization. Extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB): recommendations for prevention and control. *Wkly Epidemiol Rec* 2006;81:430-432.
60. Yates, M. D., A. F. Drobniowski, and S. M. Wilson. Evaluation of a rapid PCR-based epidemiological typing method for routine studies of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 712-714