

Interferon-gamma Release Assays in der klinikbasierten Tuberkulose-Diagnostik bei Kindern und Jugendlichen – eine retrospektive Analyse*

Interferon-Gamma Release Assays for Hospital-Based Tuberculosis Diagnostics in Children and Adolescents – A Retrospective Analysis

Autoren

M. Knappik¹, N. Schönfeld¹, A. Günther², T. Bergmann³, K. Magdorf⁴, H. Rüssmann³, H. Mauch³, M. Barker²

Institute

Die Institutsangaben sind am Ende des Beitrags gelistet.

eingereicht 12. 2. 2012
akzeptiert nach Revision
12. 3. 2012

Bibliografie

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0032-1308914>
Pneumologie 2012; 66: 207–211
© Georg Thieme Verlag KG
Stuttgart · New York
ISSN 0934-8387

Korrespondenzadresse

**Priv.-Doz. Dr. med.
Michael Barker**
Klinik für Kinder- und
Jugendmedizin
HELIOS Klinikum Emil von Behring
Walterhöferstr. 11
14165 Berlin
michael.barker@helios-
kliniken.de

Zusammenfassung



Einleitung: Interferon-gamma Release Assays (IGRA) sind in der Diagnostik der latenten Tuberkulose bei Erwachsenen etabliert, zu ihrer diagnostischen Wertigkeit bei Kindern existiert weniger Evidenz. Ziel unserer Studie war die Analyse von Sensitivität und Spezifität der IGRA im Vergleich mit Tuberkulin-Hauttests (THT) bei einer Serie von Kindern und Jugendlichen, die in unserer Lungenklinik mit Spezialambulanz vorgestellt wurden.

Methoden: Retrospektiv wurde die in den Jahren 2009–2011 an unserem Zentrum durchgeführte pädiatrische Tuberkulose-Diagnostik ausgewertet. Komplette Daten waren von insgesamt 80 Kindern und Jugendlichen im Alter von 3 Monaten bis 17 Jahren in folgenden Diagnose-Gruppen verfügbar: aktive Lungentuberkulose (MTB, n=13), latente Tuberkulose-Infektion (LTBI, n=15) sowie eine Vergleichsgruppe aus Patienten mit Tuberkulose-Exposition (n=40), nichttuberkulöser Mykobakteriose (NTM, n=2) oder anderen Lungenerkrankungen (n=10).

Ergebnisse: Alle 13 Patienten mit MTB reagierten sowohl im IGRA als auch im THT positiv. In der LTBI-Gruppe reagierten 14/15 im IGRA und 14/15 im THT positiv. In der Vergleichsgruppe reagierten 0/52 im IGRA positiv, während drei Patienten einen positiven THT aufgrund einer Kreuzreaktion mit BCG oder NTM zeigten.

Diskussion: Die Ergebnisse von IGRA und THT korrelieren auch bei pädiatrischen Patienten mit aktiver oder latenter Tuberkulose sehr eng. Im Vergleich zum THT zeigt der IGRA eine ähnlich gute Sensitivität und höhere Spezifität. Prospektive Studien sollten den Stellenwert der IGRA in einer unselektierten Population weiter herausarbeiten

Abstract



Objective: Interferon-gamma release assays (IGRA) are well established for diagnosing latent tuberculosis infection in adults. Evidence for their diagnostic relevance in children is still insufficient. The aim of this study was to evaluate the sensitivity and specificity of IGRA compared to the tuberculin skin test (TST) in a local population of children and adolescents presenting to our lung clinic with a specialised outpatient department.

Methods: Records from all patients evaluated for tuberculosis at our centre between 2009 and 2011 were analysed retrospectively. Complete data sets were available for 80 children and adolescents (age 3 months to 17 years) in the following diagnostic groups: active pulmonary tuberculosis (MTB, n=13), latent tuberculosis infection (LTBI, n=15) and controls with tuberculosis exposure (n=40), non-tuberculous mycobacterial disease (NTM, n=2) or other lung diseases (n=10).

Results: All 13 patients with MTB were positive on both IGRA and TST. Among the LTBI patients, 14/15 had a positive IGRA and 14/15 a positive TST result. In the control group 0/52 exceeded the IGRA cut-off, while three patients had a positive TST due to a cross reaction with BCG or NTM.

Discussion: IGRA and TST results are highly correlated in paediatric patients with active or latent tuberculosis. IGRA sensitivity was comparable to that of the TST with a higher specificity as expected. The importance of IGRA in the hospital setting to guide diagnostic algorithms in an unselected population should be further evaluated in prospective studies.

* Die Auswertung wurde durch die Stiftung Oskar-Helene-Heim, Berlin, unterstützt.

Einleitung

Im Jahr 2010 lag die geschätzte globale Tuberkulose-Inzidenz bei 8,8 Millionen Neuerkrankungen. Schätzungsweise 10% dieser Fälle waren Kinder [1]. In Deutschland erkrankten 2009 146 Kinder und Jugendliche unter 15 Jahren an einer Tuberkulose. Dies entspricht einer Inzidenz von 1,3 pro 100 000 Kinder [2].

Nach engem Kontakt mit Personen, die an einer ansteckungsfähigen Tuberkulose erkrankt sind, haben Kinder ein höheres Infektionsrisiko für *Mycobacterium tuberculosis* als Erwachsene [3]. Obwohl es in den meisten Fällen bei einer latenten Tuberkulose-Infektion (LTBI) bleibt, beträgt die Wahrscheinlichkeit, in den ersten 2 Jahren nach Infektion eine aktive Tuberkulose zu entwickeln, bei Kindern unter 5 Jahren bis zu 40% [4]. Die Therapie von LTBI, insbesondere bei Personengruppen mit einem erhöhten Manifestationsrisiko, ist essenzieller Bestandteil der Strategie zur Tuberkulose-Elimination [5].

Bekannte Probleme des Tuberkulin-Hauttests (THT) sind die Kreuzreaktivität mit dem BCG-Impfstamm und mit nichttuberkulösen Mykobakterien. Weitere Nachteile des THT sind ein Booster-Effekt bei wiederholter Durchführung, die Gefahr der Fehlinterpretation des Hautbefundes und die Tatsache, dass ein zweiter Arztbesuch zur Auswertung des THT notwendig ist.

2007 hat das Deutsche Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose die Interferon-gamma Release Assays (IGRA) in ihre Empfehlungen zur Testung von Kontaktpersonen auf LTBI aufgenommen und in der aktuellsten Fassung einen altersadaptierten Algorithmus für die Umgebungsuntersuchung vorgeschlagen [6]. Aufgrund der im Vergleich zum THT höheren Spezifität und geringerer praktischer Probleme sind IGRA bei Erwachsenen hier inzwischen fest etabliert.

Für Kinder und Jugendliche existieren zwar Daten zum Einsatz von IGRA bei der Umgebungsuntersuchung, aber keine ausreichende Evidenz für ihre diagnostische Wertigkeit vor allem bei jungen Kindern, die mit Verdacht auf aktive Tuberkulose in einem klinischen Setting untersucht werden. Neben klinischer, radiologischer, mikrobiologischer und ggfs. histologischer Untersuchung wurde daher bei Patienten unter 5 Jahren im Rahmen der Diagnostik auf latente oder aktive Tuberkulose bislang primär die Durchführung eines THT – ggfs. gefolgt von einem IGRA – empfohlen [7]. Ziel unserer Studie war die retrospektive Analyse von Sensitivität und Spezifität der IGRA im Vergleich mit Tuberkulin-Hauttests bei einer lokalen Serie von Kindern verschiedener Altersgruppen und Jugendlichen, die mit Verdacht auf Lungentuberkulose in unserem Zentrum vorgestellt wurden.

Patienten und Methoden

Retrospektiv wurde die von 2009–2011 in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des HELIOS Klinikums Emil von Behring durchgeführte Tuberkulose-Diagnostik bei stationär und ambulant behandelten Kindern und Jugendlichen im Alter von 0–17 Jahren analysiert. Für diese Auswertung wurden die Ergebnisse von IGRA und THT mit den Befunden der mikrobiologischen und radiologischen Diagnostik korreliert.

Als Diagnosekriterium für eine aktive Tuberkulose (MTB) wurde entweder der kulturelle Nachweis von Erregern des *Mycobacterium tuberculosis*-Komplexes oder das Vorliegen von typischen radiologischen Veränderungen in Kombination mit einem positiven THT und/oder IGRA bei entsprechender Exposition festgelegt.

Als Diagnosekriterium für eine latente Tuberkulose-Infektion (LTBI) wurde ein positiver IGRA und/oder THT ohne radiologische Veränderungen bzw. mikrobiologischen Erregernachweis definiert bei bekannter Kontaktanamnese.

Die IGRA-Diagnostik wurde mittels des QuantiFERON-TB Gold in Tube® (Cellestis, Carnegie, Australia) nach den Produktempfehlungen des Herstellers durchgeführt. Als Grenzwert für einen positiven Test wurde der vom Hersteller angegebene Wert von >0,35 IU/ml verwendet.

Die THT-Diagnostik wurde durch intrakutane Injektion von 2 Einheiten Tuberkulin RT23 (Statens Serum Institut, Kopenhagen, Dänemark) durchgeführt. Bei der Ablesung nach 72 Stunden wurde der mittlere Durchmesser der Induration in mm dokumentiert. Als positiver Test galt (gemäß [7,8] und den Empfehlungen von DZK und DGPI) bei Kindern mit engem Tuberkulose-Kontakt, HIV-Infektion oder pathologischem Röntgenbefund eine Induration von >5 mm, bei Kindern mit Kontakt zu Tuberkulose-Risikopopulationen, dokumentierter THT-Konversion innerhalb der letzten 2 Jahre oder Kindern unter 4 Jahren ohne Kontaktanamnese eine Induration ≥ 10 mm und bei BCG-Geimpften sowie Kindern ab 4 Jahren ohne Exposition eine Induration ≥ 15 mm. Komplette Datensätze waren von insgesamt 80 Kindern und Jugendlichen der folgenden Diagnose-Gruppen verfügbar: 13 Patienten mit einer aktiven Lungentuberkulose, 15 Patienten mit einer latenten Tuberkulose-Infektion, 40 Patienten mit Tuberkulose-Exposition, zwei Patienten mit einer nichttuberkulösen Mykobakteriose (NTM) und 10 Patienten mit anderen Lungenerkrankungen. Das Alter der Kinder und Jugendlichen lag zwischen 3 Monaten und 17 Jahren (Median 6 Jahre), die Altersverteilung der einzelnen Diagnose-Gruppen ist in **Tab. 1** wiedergegeben. Die Untergruppe der Säuglinge und Kleinkinder (0–5 Jahre) umfasste 37 Kinder.

Tab. 1 Ergebnisse von Interferon-gamma Release Assay (IGRA) und Tuberkulin-Hauttest (THT) nach Diagnosegruppen.

	IGRA			THT			
	N	Alter ¹ [Jahre]	Positiv	Negativ	Interferon- γ ¹ [IU/ml]	Positiv	Negativ
MTB	13	13 (1–17)	13 (100%)	0 (0%)	8,32	13 (100%)	0 (0%)
LTBI	15	8 (2–17)	14 (93%)	1 (7%)	3,92	14 (93%)	1 (7%)
Kontrollen	52	4 (0,25–17)	0 (0%)	52 (100%)	0,01	3 (6%)	49 (94%)

¹ Median

Ergebnisse

Alle 13 Patienten mit aktiver Lungentuberkulose reagierten sowohl im IGRA als auch im THT positiv. Der Median im IGRA lag in dieser Gruppe bei 8,32 IU/ml (Spannweite 1,09–21,6 IU/ml), die Einzelergebnisse sind in **Abb. 1** dargestellt. Somit betrug die Sensitivität beider Verfahren für den Nachweis einer aktiven Lungentuberkulose in unserer kleinen Studienpopulation 100%. In der Gruppe mit LTBI reagierten 14 von 15 im IGRA und 14 von 15 im THT positiv.

Die mediane Interferon-Freisetzung im IGRA betrug in der LTBI-Gruppe 3,92 IU/ml (Spannweite 0,3–93,8 IU/ml), es traten zwei Fälle von Diskordanz zwischen IGRA und THT auf. Bei einem 8-jährigen Kind mit Tuberkulosekontakt betrug der IGRA-Wert 1,1 IU/ml, während der THT negativ ausfiel. Im zweiten Fall (9 J.) wurde im THT eine Induration von 15 mm nachgewiesen, während das Ergebnis des IGRA mit 0,3 IU/ml unterhalb des Cut-off (0,35 IU/ml) lag.

In der mitanalysierten Vergleichsgruppe von 52 Patienten mit Tuberkulose-Exposition ohne Hinweis auf Infektion, NTM-Infektionen oder anderen Lungenerkrankungen reagierte keiner im IGRA positiv (Median 0,01 IU/ml, Spannweite 0,00–0,21 IU/ml), während drei Patienten einen positiven THT zeigten. Dies betraf zwei Kinder mit dokumentierter BCG-Impfung und einen Patienten mit nachgewiesener NTM-Infektion, der IGRA-Wert lag in diesen drei Fällen bei 0,00 IU/ml. Die Spezifität in dieser Studie betrug für den IGRA somit 100%, für den THT 94,2% (vgl. **Tab. 1**).

Betrachtet man gesondert die Gruppe der jungen Kinder von 0–5 Jahren ($n=37$), so reagierten alle 5 Patienten mit aktiver oder latenter Tuberkulose-Infektion im IGRA positiv. Dies betraf sowohl die MTB-Gruppe ($n=3$, Interferon-Werte 6,2–10,0 IU/ml) als auch die LTBI-Gruppe ($n=2$, Interferon-Werte 18,0–93,4

IU/ml). Die übrigen 32 Kleinkinder gehörten der Vergleichsgruppe an.

In unseren Studiendaten zeigte sich kein signifikanter Unterschied im IGRA-Ergebnis zwischen den Patientengruppen mit aktiver Tuberkulose oder latenter Tuberkuloseinfektion. Die Einzelwerte in Relation zum Patientenalter sind in **Abb. 1** wiedergegeben, ein systematischer Zusammenhang zwischen Alter und Interferon-gamma-Freisetzung war – auch aufgrund der geringen Fallzahl – nicht ersichtlich.

Diskussion

In unserer Lungenklinik mit Spezialambulanz wurden innerhalb von 2,5 Jahren insgesamt 80 Kinder und Jugendliche aufgrund ihrer Kontaktanamnese, klinischer Symptome oder auffälliger Vorbefunde auf das Vorliegen einer latenten oder aktiven Tuberkulose-Infektion untersucht. Diese unselektierte Serie mit breitem Altersspektrum bot die Möglichkeit, die Ergebnisse der parallel durchgeführten Hauttests und IGRA vergleichend auszuwerten und mit der abschließenden diagnostischen Zuordnung im Sinne von Sensitivität und Spezifität zu korrelieren.

Dabei zeigten beide Verfahren in der Gruppe der MTB-Patienten ($n=13$) eine hohe Sensitivität, analog zu den Ergebnissen früherer Studien bei Kindern und Jugendlichen [9–11].

In der LTBI-Gruppe sahen wir 2 Fälle mit diskordantem Ergebnis. Beim ersten Patienten (enger Kontakt, THT negativ, IGRA positiv, Röntgen unauffällig) haben wir dies als falsch negativen Hauttest gewertet. Im zweiten Fall (enger Kontakt, THT positiv, IGRA 0,3 IU/ml) war eine spezifische Interferon-Freisetzung messbar, die jedoch unter dem vom Hersteller angegebenen cut-off lag. Wie alle anderen Biomarker zeigen auch IGRA-Ergebnisse eine stetige Verteilung, sodass Grenzwerte naturgemäß mit dem Risiko von

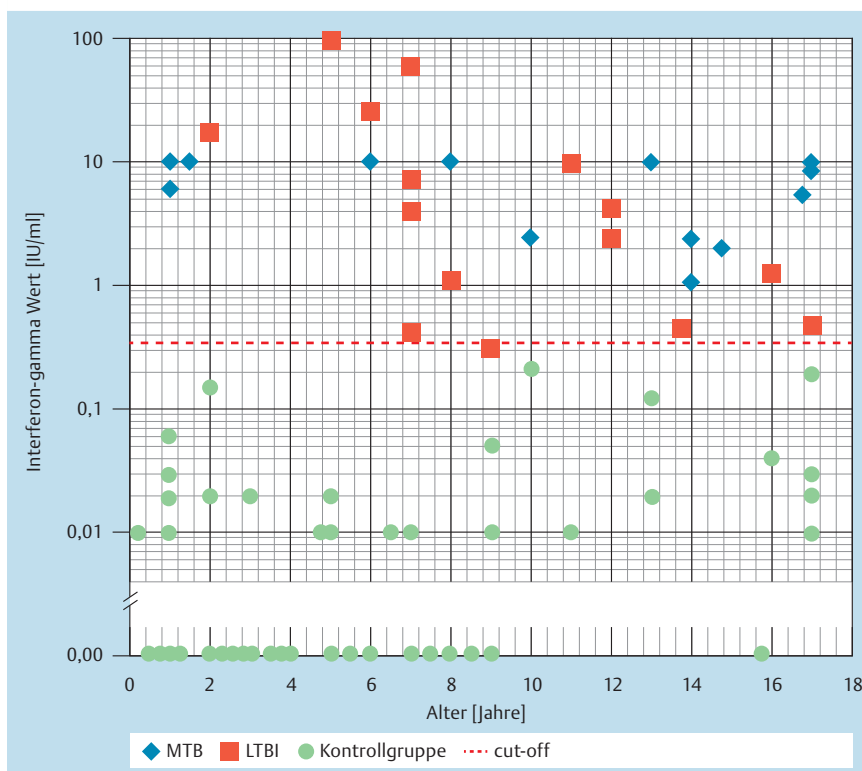


Abb. 1 Streuung der IGRA-Werte in Abhängigkeit von Alter und Diagnosegruppe.

α - und β -Fehlern behaftet sind. Dies muss bei der individuellen Interpretation und Therapieentscheidung berücksichtigt werden.

Aus den Ergebnissen unserer Vergleichsgruppe errechnete sich eine Spezifität des IGRA von 100% gegenüber 94% für den THT. Ursächlich hierfür waren, wie in anderen Studien beschrieben [12–15], positive Hautteste bei Kindern mit Zustand nach BCG-Impfung ($n=2$) oder nichttuberkulöser Mykobakteriose ($n=1$). Obwohl die BCG-Impfung von der Ständigen Impfkommision (STIKO) am Robert-Koch-Institut seit 1998 nicht mehr empfohlen wird, ist ein relevanter Anteil der aus Tuberkulose-Hochprävalenzregionen stammenden Kinder dort geimpft worden. Die BCG-Impfung ist in vielen Ländern noch Teil des jeweiligen nationalen Impfprogrammes, da die Impfung Kleinkindern einen gewissen Schutz vor der tuberkulösen Meningitis, der Miliartuberkulose und der nichttuberkulösen Lymphadenitis bietet [16, 17]. Die Tuberkulose-Inzidenz war 2010 in Deutschland bei Kindern mit ausländischer Staatsangehörigkeit etwa 7-mal höher als bei deutschen Kindern (6,3 vs. 0,9 pro 100 000) [2]. Da die Spezifität des THT in dieser zum größten Teil BCG-geimpften Bevölkerungsgruppe deutlich niedriger ist, sollten IGRA bei ihnen parallel zu Diagnostik und Screening und auf jeden Fall zur Verifizierung eines positiven THT eingesetzt werden [6].

Seitdem die BCG-Impfung in Niedrigprävalenzregionen nicht mehr Teil der nationalen Impfprogramme ist, ist es in diesen Ländern zu einem Anstieg der nichttuberkulösen Mykobakterien gekommen [18–20]. Auch in der sehr kleinen Population ($n=2$) von NTM-Patienten in unserer Studie beobachteten wir einen positiven THT.

Die diagnostische Wertigkeit von IGRA bei jungen Kindern bis 5 Jahren ist weiterhin nicht eindeutig geklärt. Hier gibt es kontroverse Ergebnisse: Einzelne Studien zeigten ein geringeres Ansprechen bei Kleinkindern [8, 12, 21], andere fanden keinen signifikanten Einfluss des Patientenalters auf die Interferon-Freisetzung [7, 11]. Soweit der begrenzte Umfang unserer Studie eine Beurteilung zulässt, zeigten die Ergebnisse des IGRA keine systematische Altersabhängigkeit (vgl. **Abb. 1**). Alle 5 Kinder mit MTB oder LTBI in der Altersgruppe von 0 bis 5 Jahren zeigten hohe Interferon-Werte, die Zahlen sind jedoch eindeutig zu gering, um eine Aussage über den diagnostischen Nutzen von IGRA in der Tuberkulose-Diagnostik von Kleinkindern ableiten zu können.

In Bezug auf die latente Tuberkuloseinfektion (LTBI) beeinträchtigt das Fehlen eines unabhängigen diagnostischen Goldstandards die Formulierung einer Aussage bezüglich Sensitivität und Spezifität von THT und IGRA. Die Zahlen aus unserer Kohorte wurden dennoch präsentiert, da das Risiko einer aktiven Tuberkulose und somit der Nutzen einer Chemoprävention bei infizierten Kindern höher ist als bei Erwachsenen.

Insbesondere bei spezifischen Risikofaktoren und Tuberkulose-Exposition sollten sowohl THT als auch IGRA angewandt werden. Bei inkongruenten Ergebnissen zwischen beiden Testverfahren, insbesondere wenn nur der THT positiv ausfällt, müssen bekannte Einflussfaktoren wie BCG-Impfung oder NTM-Infektion ausgeschlossen und eine unnötige Therapie vermieden werden, wie bereits für die Umgebungsuntersuchung empfohlen [6]. Unklar ist weiterhin, ob bei Kindern auch eine erneute IGRA-Testung im Verlauf sinnvoll sein kann.

Zusammenfassend fanden wir in der untersuchten gemischten Population eine hohe Übereinstimmung zwischen IGRA und THT. In einigen Fällen mit positivem THT aufgrund von BCG-Impfung oder NTM-Infektion zeigte der IGRA eine höhere Spezifität.

Die Ergebnisse unserer lokalen Kohorte im Setting einer spezialisierten Abteilung sind somit gut vereinbar mit aktuellen Metaanalysen [22–25] und den DZK-Empfehlungen zur Umgebungsuntersuchung [6]. In Niedrigprävalenzländern kann die höhere Spezifität der IGRA für den Nachweis einer LTBI von Vorteil sein, ihr Stellenwert in der Diagnostik einer aktiven Tuberkulose ist weiterhin nicht hinreichend geklärt [26]. Die Rolle der IGRA in der parallelen oder alternativen Tuberkulose-Testung von Kindern und Jugendlichen sollte daher in weiteren und größeren prospektiven Studien näher untersucht werden.

Im individualmedizinischen klinischen Kontext stellt die immunologische Testung immer einen diagnostischen Mosaikstein dar [27]. Die Indikation zur Therapie von Kindern mit Verdacht auf LTBI oder MTB muss dabei im Einzelfall durch pädiatrische Pneumologen und/oder Infektiologen mit spezieller Erfahrung in der Tuberkulose-Behandlung gestellt werden.

Interessenkonflikt



Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Institute

¹ Klinik für Pneumologie, Lungenklinik Heckeshorn, HELIOS Klinikum Emil von Behring, Berlin

² Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, HELIOS Klinikum Emil von Behring, Berlin

³ Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Laboratoriumsmedizin, HELIOS Klinikum Emil von Behring, Berlin

⁴ Klinik für Pädiatrie m. S. Pneumologie/Immunologie, Charité Universitätsmedizin Berlin und Stiftung Oskar-Helene-Heim, Berlin

Literatur

- 1 World Health Organization. Global Tuberculosis Control: Surveillance, Planning and Financing. WHO Report Geneva: 2011
- 2 Robert Koch-Institut. Bericht zur Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland für 2009. Berlin: 2011
- 3 Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS et al. Childhood pulmonary tuberculosis: old wisdom and new challenges. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 1078–1090
- 4 Marais BJ, Pai M. Recent advances in the diagnosis of childhood tuberculosis. *Arch Dis Child* 2007; 92: 446–452
- 5 Migliori GB, Hopewell PC, Blasi F et al. Improving the TB case management: The International Standards for Tuberculosis Care. *Eur Respir J* 2006; 28: 687–690
- 6 Diel R, Loytved G, Nienhaus A et al. Neue Empfehlungen für die Umgebungsuntersuchungen bei Tuberkulose, Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose. *Pneumologie* 2011; 65: 359–378
- 7 Magdorf K, Detjen AK. Proposed management of childhood tuberculosis in low-incidence countries. *Eur J Pediatr* 2008; 167: 927–938
- 8 Magdorf K, Bialek R, Detjen AK et al. Tuberkulose und nichttuberkulöse Mykobakterien. In: Handbuch „Infektionen bei Kindern und Jugendlichen“. 5. Ausgabe, Stuttgart: Georg Thieme; 2009: 528–544
- 9 Altet-Gomez N, De Souza-Galvao M, Latorre I. Diagnosing TB infection in children: analysis of discordances using in vitro tests and the tuberculin skin test. *Eur Respir J* 2011; 37: 1166–1174
- 10 Detjen AK, Keil T, Roll S et al. Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 322–328
- 11 Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC et al. Performance of a whole-blood interferon gamma assay for detecting latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* in children. *Thorax* 2006; 61: 616–620
- 12 Pavic I, Zrinski R, Topic D et al. Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent tuberculosis in children younger than 5 years of age. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: 866–870
- 13 Thomas B, Pugalenthi A, Patel H. Concordance between tuberculin skin test and interferon- γ assay and interferon-gamma response to mitogen in pediatric tuberculosis contacts. *Pediatr Pulmonol* 2011; 46: 1225–1232

- 14 Bianchi L, Galli L, Moriondo M et al. Interferon-gamma release assay improves the diagnosis of tuberculosis in children. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 510–514
- 15 Kampmann B, Whittaker E, Williams A et al. Interferon-release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. *Eur Respir J* 2009; 33: 1374–1382
- 16 Eisenhut M, Paranjothy S, Abubakar I et al. BCG vaccination reduces the risk of infection with *Mycobacterium tuberculosis* as detected by gamma interferon release assay. *Vaccine* 2009; 27: 6116–6120
- 17 Trunz BB, Fine P, Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of cost-effectiveness. *Lancet* 2006; 367: 1173–1180
- 18 Romanus V. Mycobacterial infections in Sweden. *Scand J Infect Dis* 1995; 98: 15–16
- 19 Vu TT, Daniel SJ, Quach C. Nontuberculous mycobacteria in children: A changing pattern. *J Otolaryngol* 2005; 34 (Suppl. 01): 40–44
- 20 Reuss AM, Wiese-Posselt M, Weissmann B et al. Incidence rate of nontuberculous mycobacterial disease in immunocompetent children: a prospective nationwide surveillance study in Germany. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 642–644
- 21 Bergamini BM, Losi M, Vaianti F. Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Pediatrics* 2009; 123: e419–e424
- 22 Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: New tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med* 2007; 147: 340–354
- 23 Mandalakas AM, Detjen AK, Hesselning AJ et al. Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2011; 15: 1018–1032
- 24 Machingaidze S, Wiysonge CS, Gonzalez-Angulo Y et al. The utility of an interferon gamma release assay for diagnosis of latent tuberculosis infection and disease in children. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: 694–700
- 25 Pai M, Zwerling AA, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med* 2008; 149: 177–184
- 26 Ling DI, Zwerling AA, Steingart KR et al. Immune-based diagnostics for TB in children: what is the evidence? *Paed Respir Rev* 2011; 12: 9–15
- 27 Shingadia D. ESPID reports and reviews: The diagnosis of tuberculosis. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31: 302–305