

Диагностична стойност на T-SPOT-TB при деца в ранна детска възраст до 3 години с първични форми на туберкулоза

Д-р Светлана Велизарова, г-р Албена Спасова
СБАЛББ „Св. София“

Резюме

Целта на настоящото проучване е да се определи ефективността на T-SPOT-TB при деца с туберкулоза в ранна детска възраст.

В Университетска детска клиника по белодробни болести са проследени 36 деца с различни форми на първични туберкулоза. Деца са били изследвани с TST и T-SPOT-TB.

Прави впечатление, че в тази възрастова група всички деца реагираха на TST с 5 МЕ ППД туберкулин. 52.8% бяха с размери на инфилтратата от 6 до 14 mm на 72 час, а 47.2% с хиперергични туберкулинови проби над 15 mm.

Бяха изследвани реакциите на двата теста при различни форми на туберкулозно заболяване:

1. В резултат на изследването бяха направени следните изводи: TST се доближава по диагностични възможности до T-SPOT-TB при най-често срещаната форма на първична туберкулоза – туберкулоза на трахеобронхиалните лимфни възли.

2. T-SPOT-TB има най-високи диагностични възможности при първичния туберкулозен комплекс – 75% положителни реакции.

3. При тежките форми на туберкулозно заболяване, като туберкулозен менингит и хематогенно-десиминирана туберкулоза, диагностичните възможности и на двата теста са ниски, поради тежката имуносупресия при малките деца.

4. При използване на двата теста имаме около 70% положителни резултати.

5. Процентът на съгласуваност при туберкулинова проба над 10 mm е 72.2%, докато при туберкулинова проба над 15 mm. е 52.7%, което потвърждава нашето виждане, че в тази възраст от особено значение е не количественият, а качественият размер на инфилтратата.

Ключови думи: туберкулоза при деца, лечение на туберкулоза, T-SPOT-TB, IGRAs тестове.

Diagnostic value of T SPOT TB in children in infancy to 3 years with primary forms of tuberculosis

Svetlana Velizarova, Albena Spasova
SBALBB St. Sofia

Abstract

The purpose of this study was to determine the effectiveness

of the T SPOT TB in children with tuberculosis in early childhood. In the university clinic of pulmonary diseases of children were followed 36 children with various forms of primary tuberculosis. Children were tested with the TST and T SPOT TB. It is striking that in this age group all children react to the TST with 5 IU PPD tuberculin. 52.8% were measuring from 6 to 14 mm. of 72ch, and 47.2% with up15mm tuberculin tests. Were examined responses of both tests in different forms of tuberculosis.

In the outturn of the study were the following conclusions:

1. TST approaches in diagnostic capabilities to the T SPOT TB in the most common form of primary tuberculosis – Tuberculosis of the lymph nodes traheobronchialnite.

2. T SPOT TB has the highest diagnostic possibilities in primary tuberculous complex 75% positive reactions.

3. In severe forms of TB disease such as tuberculous meningitis and tuberculosis. hematogenno desiminirana diagnostic possibilities of both tests were low due to the severe immunosuppression in young children.

4. When using both tests have about 70% positive results.

5. Percentage of coherence in the tuberculin test above 10 mm was 72.2%, while the tuberculin test above 15 mm. was 52.7%, which confirms our view that at this age it is important not quantitative but qualitative amount of leachate.

Key words: tuberculosis in children, treatment of TB, T SPOT TB, IGRAs tests.

През 19 век от туберкулоза е умирал 1 от всеки 5 заболели. През 1882 г. г-р Роберт Кох открива причинителя на болестта. След откриване на туберкулозния бактерия от Роберт Кох се открива и надеждата за лечението на най-смъртоносното заболяване през 19 век.

В края на 19 и началото на 20 век се правят редица фундаментални открития, които улесняват диагностиката на туберкулозното заболяване.

BCG ваксината, открита от Calmete и Guerin през 1921 г., прави колосална стъпка напред по отношение на имунопрофилактиката на туберкулозното заболяване. Масовото ѝ прило-

жение след 1948 г. води до снижение на заболяемостта в Европа с десетки пъти. Заедно с откриване на туберкулозостатичната терапия между 1940–1960 г. снижаването на заболяемостта е рязко. От 1960–80 г. ефективността в лечението напредва, създават се терапевтични режими, започват се комбинирани схеми на лечение, създава се стройна диспансерна мрежа, което води до много оптимистични резултати. Счита се, че в края на 20 век туберкулозата ще е забравено заболяване.

Нещата се променят, когато през 1980–90 г. се открива HIV вируса. Оказва се, че туберкулозата е опортюнистично заболяване при болни от СПИН. Поради глобализацията и неконтролируемата миграция вече е невъзможен контролът на туберкулозното заболяване и то изживява ренесанс в края на 90-те години на 20 век.

Необходимо беше да се открият антигени, които са строго специфични само за туберкулозния бактерии и ги няма в БЦЖ ваксината или атипичните микобактерии. Това стана възможно след разчитане на генома на туберкулозния бактерии. Тези специфични антигени са ранно секретирани прицелен антиген 6 (ESAT-6) и културелно филтриран протеин 10 (CFP-10). Тези антигени се локализиращат в гена, диференциран като RD 1 сегмент на туберкулозния микобактерий. Двата протеина се свързват с вирулентността на туберкулозния бактерии и неговата цитотоксичност. Пряко отговарят за специфичния Т-клетъчен имунен отговор.

T-SPOT-TB е открит от Аджит Лалвани през 2001 г. и за пръв път е представен на симпозиума в Париж през 2004 г. Този тест директно преброява ефекторните клетки, продуциращи гама-интерферон. Сепарирани лимфоцити се поставят в специални гнезда с антигени и специфичните антигени се полепват по гама-интерферон продуциращите Т-клетки. След измиване остават вторичните антигени и те могат да се визуализират в едно гнездо. Едно гнездо е една Т-клетка.

Целта на настоящето проучване бе да установим ефективността на T-SPOT-TB при децата, болни от туберкулоза, в ранна детска възраст. Проучването бе финансирано от Медицински университет – София, по ГРАНТ договор №2/ 15.07.2008 г.

Материал и методика

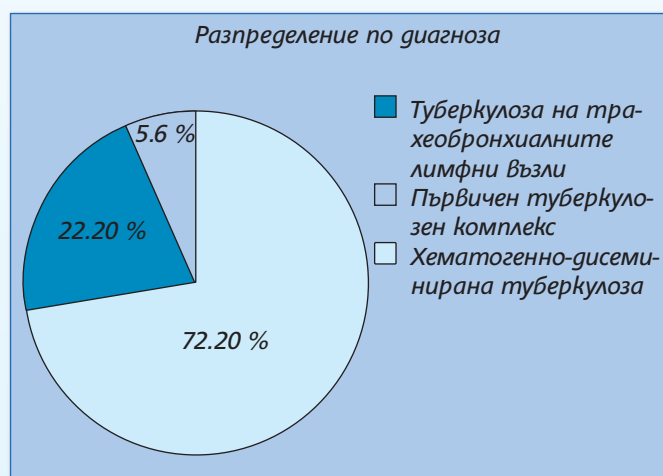
В Университетска детска клиника по белодробни болести СБАЛББ „Света София“ бяха проследени 36 деца с различни форми на първична туберкулоза от 0- до 3-годишна възраст.

Насочихме се към нея поради това, че е най-малко проучена поради специфичността на имунологичните феномени в тази възраст и много противоречиви данни в литературата за ефективността на T-SPOT-TB.

Резултати и обсъждане

Съотношението момчета към момичета бе 1:1. Всички деца бяха лекувани в клиниката, насочени от ОПЛ или окръжните диспансери по места.

Най-голям бе процентът на децата с туберкулоза на трахеобронхиалните лимфни възли – 72.2%, следван от първичен туберкулозен комплекс – 22.2%, и хематогенно десиминирани форми – 5.6%, което не се различава много от структурата на заболяемостта в България за тази възрастова група (фиг. 1).

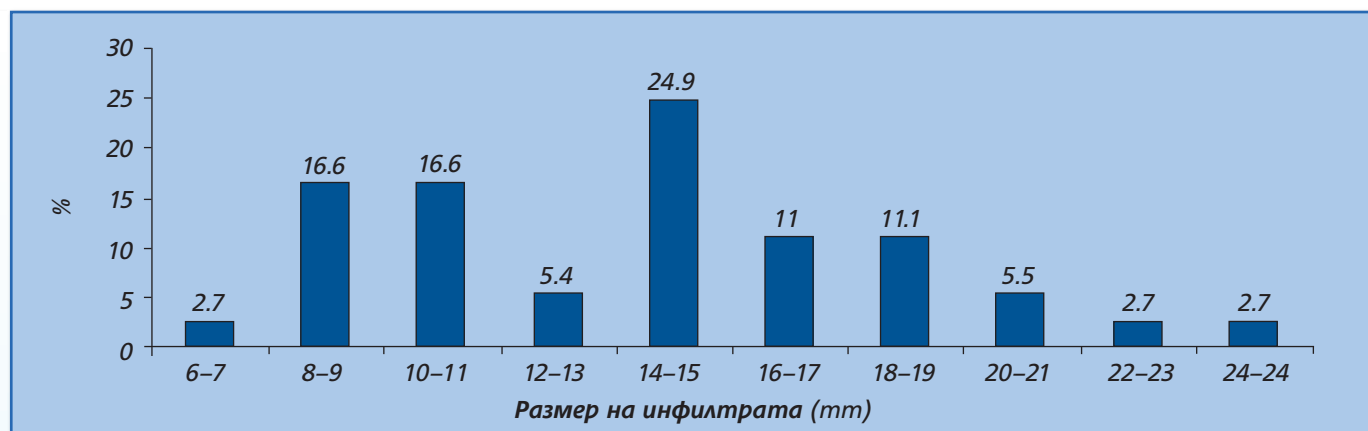


Фиг. 1. Разпределение на изследваните деца по диагнози

Всички деца бяха проверени за наличието или липсата на белег от БЦЖ ваксинация. При 61.1% липсваше белег от БЦЖ, което е свързано или с късната поява на белега при децата до 1-годишна възраст, или с пропуски във ваксиналната ни програма. Тъй като наличието на белег е единственият критерий за екзактно извършена БЦЖ ваксинация, ние ще проследим тези деца по отношение на тежестта на протичане на заболяването.

Имайки предвид протичането на туберкулозното заболяване и неговата клинична изява, голям процент от децата (80.6%) попадат в клиниката след откриване на възрастен бацилоотделител.

Познавайки етиопатогенезата на туберкулозата в детската възраст, е известно, че много малък процент от децата са бацилоотделители. В тази възрастова група 27.8% бяха БК-положителни директно или на посевка, което е доста по-високо от средното за детска възраст – около 14%.



Фиг. 2. Хистограма на туберкулиновата проба

Прави впечатление, че в тази възрастова група всички деца реагираха на TST с 5 МЕ ППД туберкулин. 52.8% бяха с размери на инфилтрат от 6 до 14 mm на 72 час, а 47.2% с хиперергични туберкулинови проби над 15 mm (фиг. 2).

При изследване с T-SPOT-TB 61.1% от децата дадоха позитивни резултати, като 2.8% реагираха на ESAT 6, 22.2% – на CFP и 36.1% и на двата антигена (фиг. 3).

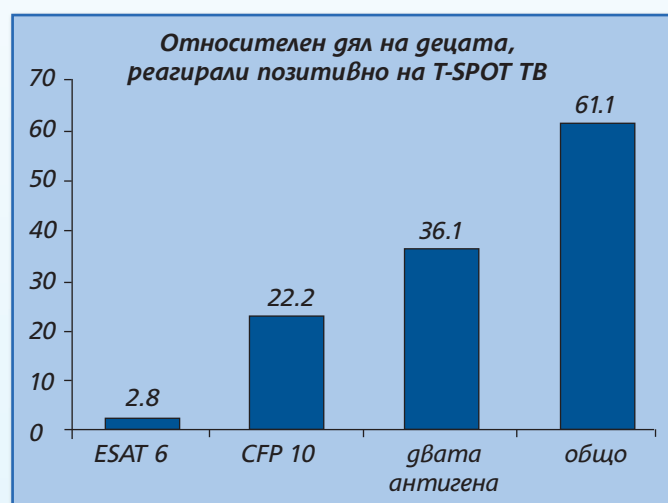
Средната възраст на изследваните деца бе 1.38 ± 0.78 години, σ 0.13.

Средните стойности на туберкулиновата проба бяха 13.97 ± 4.31 mm, σ 0.7 (95% CI 12.51–15.43). Както статистиката ни демонстрира, средният размер на инфилтрат е в граници на нормергията, но при повечето деца качествената характеристика ни говореше за вирулентен характер на инфилтратата – имаше були, везикули, точковидни кръвоизливи, неравни граници на инфилтратата, остатъчна пигментация или крусти. Това още веднъж ни насочва към това колко важна е интерпретацията на една наглед лесна за изпълнение проба.

ESAT 6 бе със средни стойности 12.93 ± 12.78 , σ 2.37 (95% CI 8.07–17.80), на CFP 10 – 18.45 ± 14.04 , σ 2.73 (95% CI 12.86–24.04). Вижда се, че почти с 6 пункта е по-голямо количеството на спотове, реагирали на CFP 10, което съответства на публикации, при които се счита, че този антиген е антиген на началната фаза на туберкулозната инфекция (фиг. 4).

За нас, като клиницисти, бе интересно да проследим и клиничните критерии за инфекция, колкото и неспецифични да са те. Установихме средно повишено ниво на левкоцитите 11.40 ± 3.87 , σ 0.65 (95% CI 10.07–12.73). Лимфоцитозата в тази възраст не може да бъде интерпретирана поради наличие на физиологична такава.

СУЕ също бе увеличено, средно $21.80 \pm 20,363,4$, σ 3.44 (95% CI 14.8–28.8), което трябва да се



Фиг. 3. Разпределение на реакциите при T SPOT TB

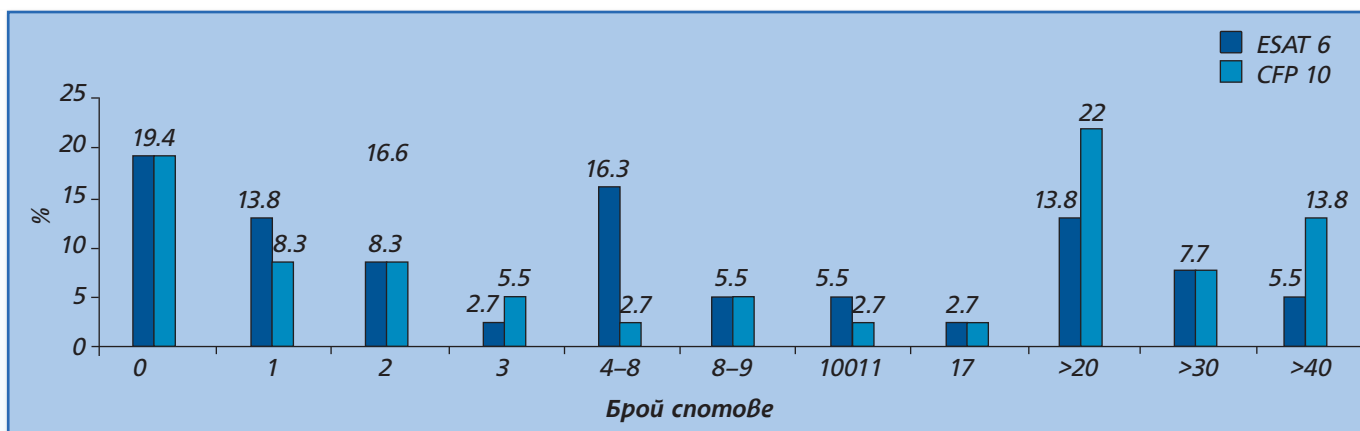
има предвид при изграждане на диагнозата за активност на специфичния процес.

Поставихме си за задача да проследим TST и T-SPOT-TB при различните форми на туберкулозно заболяване.

При туберкулоза на трахеобронхиалните лимфни възли 53.8% от децата бяха с хиперергичен TST и 46.2% с нормергичен. 61.5% реагираха позитивно на T-SPOT-TB, като 26.9% на CFP 10 и 34.6% на двата антигена. Това още веднъж подкрепя казаното по-горе (фиг. 5).

При първичния туберкулозен комплекс 62.5% са с нормергични TST, но с белези на вирулентност, и 37.5% са с хиперергични ТКТ. T-SPOT-TB при тази нозологична единица се позитивира в 75% от болните, като 12.5% реагираха на ESAT 6, същият процент на CFP 10 и 50% на двата антигена, което е в подкрепа на етиопатогенезата на първичния комплекс, при който е нужна голяма и продължителна инвазия на туберкулозния бактерии (фиг. 6).

Двете деца с хематогенно десиминирани форми бяха с нормергични туберкулинови проби и отрицателни на T-SPOT-TB, което от една страна може да се обясни с тежестта на забо-



Фиг. 4. Хистограма на двата антигена при T-SPOT-TB

ляването, а от друга с малката възраст на децата и недостатъчното количество ефекторни Т-лимфоцити, продуциращи гама-интерферон.

Наличието или липсата на БЦЖ белег не се отрази на реакцията на туберкулин. И двете групи реагираха по равно с нормергични и хиперергични туберкулинови проби.

При T-SPOT-TB 54.6% от децата без белег от БЦЖ реагираха положително, като от тях 22.7% на CFP 10 и 31.8% на двата антигена. При децата с белег от БЦЖ 71.4% бяха позитивни, като 7.1% на ESAT 6, 21.4% на CFP 10 и 42% на двата антигена. Това ни дава основание да считаме, че наличието или липсата на белег от БЦЖ като критерии за извършена БЦЖ вакцинация няма влияние върху T-SPOT-TB.

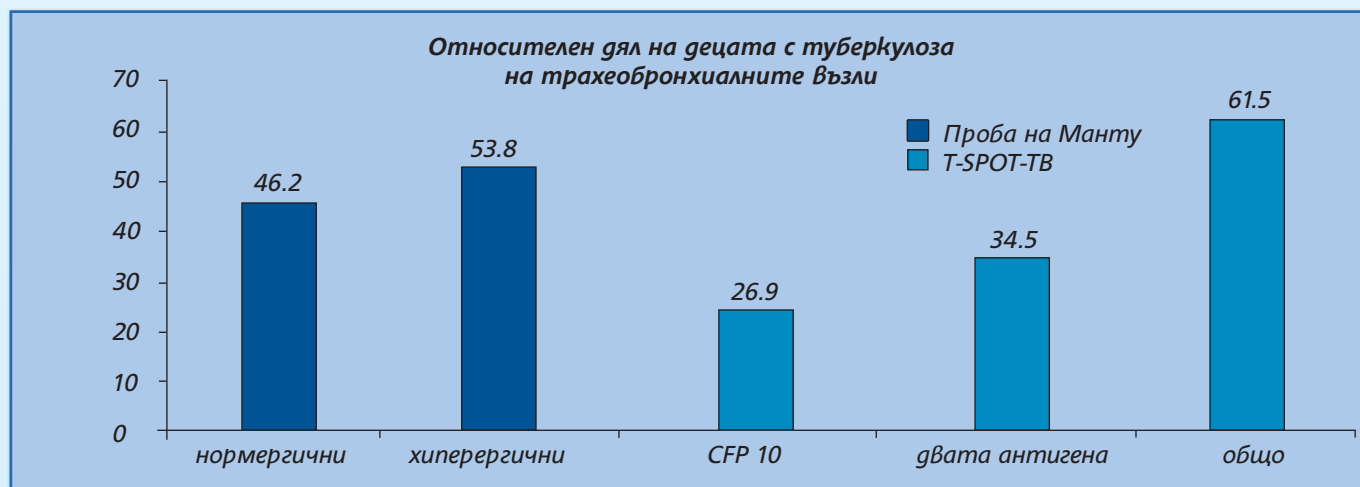
Контактните деца в тази възрастова група имаха по-голям процент нормергичен туберкулинов тест – 55.2%, отколкото хиперергичните – 44.8%, което още веднъж е в подкрепа на казаното по-горе по отношение на количествения размер на инфилтратата. T-SPOT-TB се позитивира в 62.1% при контактните и в 57.1% при децата

без контакт, което е логично, имайки предвид експозицията с туберкулозни бактерии.

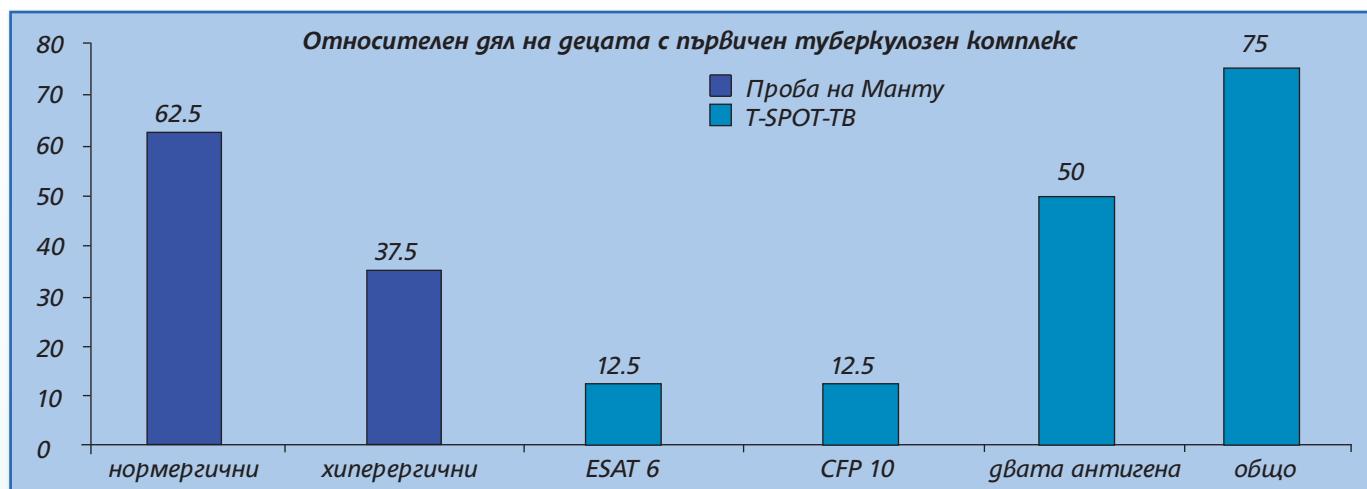
Интересно е да се отбележи, че при децата БК-положителен е процентът на хиперергия само при 30%, за сметка на БК-отрицателните, при които хиперергията е 53.8%. При БК положителните деца само 30% са позитивни на T-SPOT-TB, което показва, че в тази възрастова група диагностичните възможности на туберкулиновия тест са по-големи (фиг. 7).

В резултат на това определехме сензитивността при TST при размер на инфилтратата над 15 mm и над 10 mm, защото установихме, че при болшинството от децата туберкулиновият тест е над 10 mm с качествени белези за вирулентност.

При размери на инфилтратата над 15 mm сензитивността на TST е само 30%, докато при размери на инфилтратата над 10 mm сензитивността е 50%, което отговаря на диагностичните възможности на теста, при които освен количествените се вземат предвид и качествените показатели за вирулентност.



Фиг. 5. Относителен дял на реакциите с двата теста при деца с туберкулоза на трахеобронхиалните лимфни възли



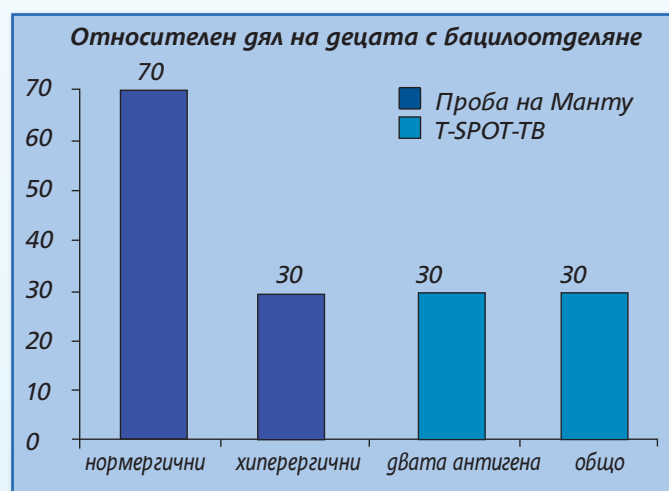
Фиг. 6. Реакции с двата теста при първичен туберкулозен комплекс

При T-SPOT-TB имаме 30% сензитивност при туберкулинова проба 15 mm и 30% сензитивност при деца с ТКТ на Манту над 10 mm.

Прави впечатление, че имаме зависимост между бацилоотделянето и ТКТ, която е добре изразена чрез вероятностното отношение 7.503-df1, $p < 0.006$, като тази зависимост се повтаря и при T-SPOT-TB – вероятностно отношение 4.588-df1, $p < 0.032$. Тази зависимост е по-изразена при туберкулинов тест над 10 mm и определя по-голямата вероятност за положителни резултати при деца с бацилоотделяне.

За нас е изключително важно да проследим има ли и каква е зависимостта между двата теста. За целта използвахме процент на конкорданс и карра.

При децата до 3-годишна възраст установихме процент на конкорданс 72.2% при вероятностно отношение 7.23-df1, $p < 0.007$, и карра 0.381, $p = 0.008$. Това говори за една относително слаба корелационна зависимост при двата имунологични теста.



Фиг. 7. Реакции на двата теста при БК положителни деца

Прави впечатление, че процентът на съгласуваност при туберкулинова проба над 10 mm е 72.2%, докато при туберкулинова проба над 15 mm е 52.7%, което още веднъж потвърждава нашето виждане, че в тази възраст от особе-

		T-SPOT-TB			общо		T-SPOT-TB			общо	
		Отрицателен	Положителен	общо			Отрицателен	Положителен	общо		
TST > 10	отрицателен	брой	6	1	7	TST > 15	нормергичен	брой	8	11	19
		%	85.7%	14.3%	100.0%			%	42.1%	68.0%	100.0%
	хиперергичен	брой	9	20	29		хиперергичен	брой	6	11	17
		%	31.0%	69.0%	100.0%			%	35.3%	73.8%	100.0%
общо		брой	15	21	36	общо		брой	14	22	36
		%	41.7%	58.3%	100.0%			%	38.9%	71.1%	100.0%

Табл. 1. Таблица на реакции на двата теста при туберкулинова проба >10 mm и > 15 mm

но значение е не количественият, а качественият размер на инфилтратата (табл. 1).

При използване на двата теста имаме около 70% положителни резултати. 69.0% при Манту наг 10 mm и 73.8% при Манту наг 15 mm.

Това ни дава основание да считаме, че независимо от трудността за поставяне на диагнозата туберкулоза в тази възраст, ако се използват и двата теста, ще имаме възможност за поставяне на диагнозата в 70% от случаите. Независимо от сложните имунологични взаимоотношения микро-макроорганизъм при децата в ранна детска възраст, двата имунологични теста имат своята стойност. Разбира се, че при деца с отрицателен T-SPOT-TB тест при останалите диагностични критерии за поставяне на диагноза трябва да се започне лечение.

От изложеното до тук можем да направим следните **изводи**:

1. TST се доближава по диагностични възможности до T-SPOT-TB при най-често срещаната форма на първична туберкулоза – туберкулоза на трахеобронхиалните лимфни възли.

2. T-SPOT-TB има най-високи диагностични възможности при първичния туберкулозен комплекс – 75% положителни реакции.

3. При тежките форми на туберкулозно заболяване, като туберкулозен менингит и хематогенно-десиминирана туберкулоза, диагностичните възможности и на двата теста са ниски, поради тежката имуносупресия при малките деца.

4. При използване на двата теста имаме около 70% положителни резултати.

5. Процентът на съгласуваност при туберкулинова проба наг 10 mm е 72.2%, докато при туберкулинова проба наг 15 mm е 52.7%, което потвърждава нашето виждане, че в тази възраст от особено значение е не количественият, а качественият размер на инфилтратата.

Литература

1. Alasdair R J Bamford, Crook M Angela, Julia Clark, Zohreh Nademi, Garth Dixon, James Y Paton, Anna Riddell, Francis Drobniowski, Andrew Riordan, Suzanne T Anderson, Amanda Williams^o, Sam Walters¹, Beate Kampmann Comparison of Interferon-gamma release assays and Tuberculin Skin Test in predicting active tuberculosis (TB) in children in the UK- a Paediatric TB Network Study BMJ – Archives of Diseases in Childhood, 10/30/09.
2. Andronikou S, Joseph E, Lucas S, Brachmeyer S, Du Toit G, Zar H, Swingler G. CT scanning for the detection of tuberculous mediastinal and hilar lymphadenopathy in children. *Pediatr Radiol* 2004; 34:232–236.
3. Bahr, G. M., T. D. Chugh, K. Behbehani, M. A. Shaaban, M. Abdul-aty, B. Alshimaci, Z. Siddiqui, M. Gabriel, G. A. W. Rook, and J. L. Stanford. 1968. Unexpected findings amongst the skin test responses to mycobacteria of BCG vaccinated Kuwaiti school children. *Tuberc* 68:105–112.
4. Ben J Marais, Madhukar Pai Recent advances in the diagnosis of childhood tuberculosis Archives of Disease in Childhood 2007; 92:446–452.
5. Chang KC, Leung ECC, Leung CC. Interferon-gamma Release assays in childhood tuberculosis: A Systematic review. *HK J Paediatr (New Series)* 2009; 14:86–95.
6. Connell TG, Ritz N, Paxton GA, et al. A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS ONE* 2008; 3:e2624.
7. Dogra S, Narang P, Mendiratta D K, et al. Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J Infect* 2006; Epub ahead of print.
8. Donald PR. Childhood tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med* 2000; 6:187–192.
9. Kampmann B., E. Whittaker, A. Williams, S. Walters, A. Gordon, N. Martinez-Alier, B. Williams, A. M. Crook, A-M. Hutton and S. T. Anderson Interferon- γ release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. *Eur Respir J* 2009; 33:1374–1382.
10. Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, Deeks JJ, Pathan AA, Lalvani A. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T cell-based assay: a prospective cohort study. *Lancet* 2004.
11. Marais BJ, Gie RP, Obihara CC, et al. Well defined symptoms are of value in the diagnosis of childhood pulmonary tuberculosis. *Arch Dis Child* 2005; 90:1162–5.
12. Nicol MP, Wilkinson RJ. Evidence guiding the treatment of children with mycobacterial diseases. *Clin Infect Dis* 2007; 44(8):1065–6.
13. Starke J R. Interferon gamma release assays for diagnosis of tuberculosis in children. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25:941–2.
14. Warier A, Gunawathi S, Venkatesh S, et al. T-Cell Assay as a Diagnostic Tool for Tuberculosis. *Indian Pediatr* 2009; [Epub ahead of print].