

# Сравнителни проучвания на диагностичните възможности на TST, T SPOT TB и QFT in tube при деца с различни форми на туберкулозно заболяване

Д-р Светлана Велizarова, д-р Албена Спасова

Детска клиника, СБАЛББ „Света София“

## Резюме

Целта на настоящото проучване бе да се сравнят диагностичните възможности на туберкулинова проба, T SPOT TB и QFT. В Университетска детска клиника по белодробни болести СБАЛББ „Света София“, бяха изследвани 25 деца с различни форми на туберкулоза и 5 деца с ЛТБИ, като едновременно бяха изследвани с туберкулинова проба, T SPOT TB и QFT.

8% от децата, изследвани с туберкулинова проба на Манту, бяха отрицателни, докато броят на нормергичните бе 40% и хиперергичните бяха 52%.

Броят на отрицателните на T SPOT TB бе 28%, на позитивните 72% и 1 дете с неопределен тест.

При QFT това са съответно отрицателни 27.6% и позитивни 72.4%.

И при двата IGRA теста се установи правопрпорционална зависимост между възрастта и позитивните проби. Това показва, че с нарастване на възрастта нараства вероятността за позитивни проби при IGRA тестовете.

**Ключови думи:** туберкулоза при деца, лечението на туберкулоза, T SPOT TB, IGRA тестове.

## Comparative studies of diagnostic potential of TST, T SPOT TB u QFT in children with different forms of tuberculosis

Svetlana Velizarova, Albena Spasova

SBALBB St. Sofia

## Abstract

The aim of the study was to compare diagnostic capabilities of the tuberculin test, T SPOT TB and QFT. At the University Children's Clinic of Pulmonary Diseases SBALBB St. Sofia. Were examined 25 children with various forms of tuberculosis and 5 children with LTBI as ednomentno were tested with tuberculin test, T SPOT TB and QFT. 8% of children tuberculin tested with a sample of Mantua were negative, while the number

of normergichnite was 40% and 52% were hiperergichnite. Number of negative T SPOT TB were 28% positive 72% and 1 child with indeterminate test. In QFT this is relevant negative 27.6 percent and 72.4 percent positive. In both IGRA tests to establish straightforward relationship between age and positive samples. This shows that with increasing age increases the likelihood of positive samples in IGRA tests.

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

Туберкулозата е заболяване, което търпи ренесанс в последните години. Една трета от световното население е инфектирано. Наг 8 млн. се разболяват всяка година и между 2–3 млн. умират от туберкулоза.

В Европейския регион има открити 450 000 нови случая и 69 000 са починали само през 2004 г. В Европа 50 човека са в риск и 8 умират на всеки час от туберкулоза. 15% от болните са резистентни на туберкулозостатици.

Има голяма разлика между заболеваемостта в Източна и Западна Европа – от 4/100000 в Швейцария до 177/100000 в Турция. В България и Румъния съответно 53/100000.

Непрекъснато се търсят нови диагностични методи за ранно поставяне на диагноза туберкулоза. IGRA (продукция на гамаинтерферон) тестовете дават нов оптимизъм не само в ранното откриване на заболяването, но и в проследяване ефекта от терапията.<sup>1, 6</sup>

Последните открития в имунологията позволиха класирането на Т-клетките в две групи: ефекторни Т-клетки и Т-клетки на паметта.

Т-клетки с памет носят на организма дългосрочен имунитет или „памет“ за инфекцията, причинена от патогена и се получават след всяка инфекция. Т-ефекторните клетки се борят с патогена пряко и в различни форми и са предназначени да убиват различни патогени по различни начини. Повечето са с краткотраен живот и умират, когато патогенът се изчиства от организма. Поради краткия живот на ефекторните Т-клетки, тяхното присъствие посочва клетъчен имунен отговор в момента и борбата срещу патоген някъде в тялото. Измерването на присъствието на ефекторни Т-клетки в проба следователно диагностицира текуща инфекция. Най-ефективният метод за установяване на този процес е технологически да може да се измерва гама-интерферона. След новите открития в областта на имунологията и генезиса на туберкулозния бактерия като алтернативен на туберкулиновия тест се оказва преброяването на Т-клетките, продуциращи гама-интерферон. Две фирми едновременно откриха метод за изолиране на специфичните антигени и стимулиране с тях на Т-ефекторните клетки за продукция на гама-интерферон. Това са тестовете Quantiferon Gold (Celestis, Australia) и T SPOT TB (Oxford Immunotec UK).<sup>9, 14</sup>

Цел на настоящето проучване бе да сравним диагностичните възможности на IGRA тестовете в детската възраст предвид много малкото публикации за едновременно изследване с туберкулинова проба, T SPOT TB и QFT.

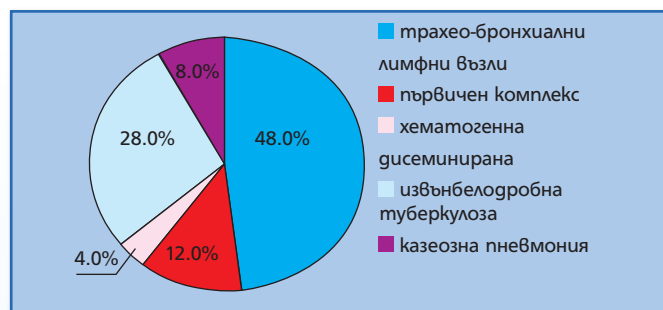
### Материал и методика

В Университетска детска клиника по белодробни болести СБАЛББ „Света София“ бяха изследвани 25 деца с различни форми на туберкулоза и 5 деца с ЛТБИ, като едновременно бяха изследвани с туберкулинова проба, T SPOT TB и QFT.

### Резултати и обсъждане

При изследването относителният дял на момичетата бе по-голям – 62.1%. При децата на 0–3 години бяха изследвани 10, от 4–7 години – 6, и над 8 години – 9 деца.

48% от изследваните деца бяха с туберкулоза на трахеобронхиалните лимфни възли, 12% с първичен туберкулозен комплекс, 28% с извънбелодробна туберкулоза, с хематогенно-дисеминирана туберкулоза бе изследвано 1 дете и с казеозна пневмония 2 деца поради редкостта на тези нозологични единици (фиг. 1).



Фиг. 1. Разпределение на диагнози

Запазва се тенденцията за преобладаване на децата без белез от БЦЖ (68%).

Децата с контакт с туберкулозно болни бацилоотделители бяха 60% и съответно децата бацилоотделители в тази група бяха 32%, което е значително по-високо от средното за страната, което се дължи на това, че в клиниката се лекуват най-тежките форми на туберкулоза в детската възраст.

8% от децата, изследвани с туберкулинова проба на Манту, бяха отрицателни, докато броят на нормергичните бе 40% и хиперергичните бяха 52%.

Броят на отрицателните на T SPOT TB бяха 28%, позитивните – 72%, и 1 дете с неопределен тест.

При QFT това са съответно отрицателни 27.6% и позитивни 72.4%.

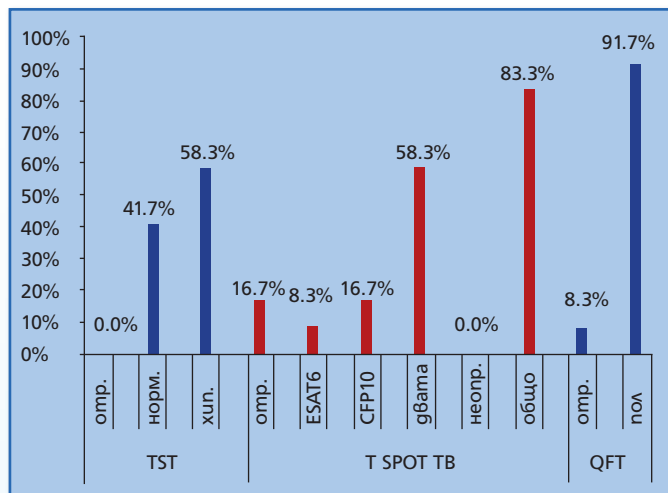
При децата в първата възрастова група, изследвани с TST, нормергичните бяха 60%, а хиперергичните 40%. При T SPOT TB отрицателните бяха 50%, а позитивните 50%. При QFT отрицателните бяха също 50%, а позитивните 50%.

При втората възрастова група 4–7 години при TST относителният дял на отрицателните е 16.7%, на нормергичните 33.3%, а хиперергичните – 50%. При T SPOT TB отрицателните бяха 16.7%, а позитивните 83.3%. При QFT всички бяха позитивни.

При групата над 8 години при туберкулинова проба на Манту относителният дял на отрицателните е 11.1%, на нормергичните 22.2%, а хиперергичните – 66.7%. При T SPOT TB отрицателните бяха 11.1%, а позитивните 88.9%. При QFT всички бяха позитивни.

И при двата IGRA теста се установи правопропорционална зависимост между възрастта и позитивните проби. Това показва, че с нарастване на възрастта нараства вероятността за позитивни проби при IGRA тестовете.

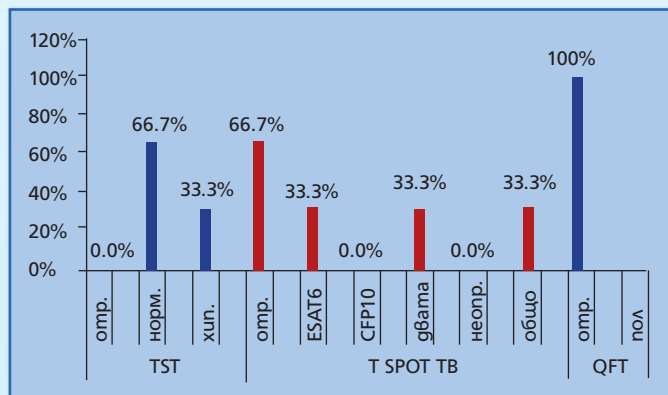
При туберкулоза на трахеобронхиалните лимфни възли всички деца реагираха на тубер-



Фиг. 2. Относителен дял на реакциите при туберкулоза на трахеобронхиалните лимфни възли

кулонова проба на Манту, като 41.7% бяха нормергични, а 58.3% хиперергични. При T SPOT TB отрицателните бяха 16.7%, 8.3% реагираха на ESAT6, 16.7% на CFP10 и 58.3% на двата антигена. И при тази нозологична единица се повтаря тенденцията за по-голям процент реагирали на CFP10, но най-голям е процентът на двата антигена, което показва че тази нозологична единица се диагностицира при по-дълга експозиция с туберкулозни бактерии. При QFT-позитивни бяха 91.7% и само 8.3% отрицателни (фиг. 2).

При първичния туберкулозен комплекс всички деца реагираха на TST, като 66.7% бяха нормергични, а 33.3% хиперергични, което още веднъж демонстрира от колко голямо значение е качествена интерпретация на туберкулиновата проба. При T SPOT TB относителният дял на отрицателните беше същия като при туберкулиновата проба, 33.3% реагираха на ESAT6, което демонстрира, че тази нозологична единица се развива след продължителна инфекция с туберкулозни бактерии. Големият процент на отрицателните е поради тежестта на само-



Фиг. 3. Относителен дял на реакциите при първичен туберкулозен комплекс

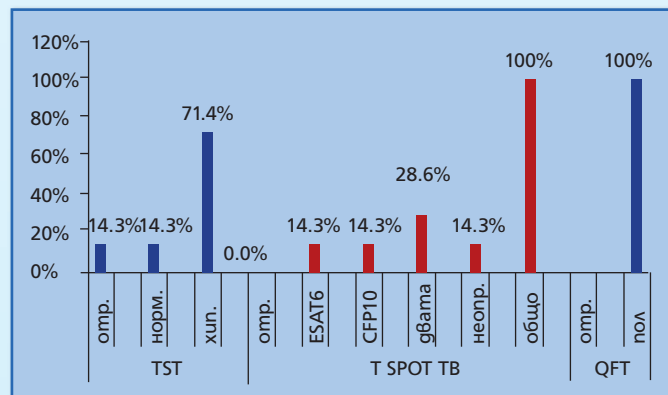
то заболяване, което води до срив в клетъчния имунитет. При QFT 100% бяха отрицателни (фиг. 3).

С хематогенно-дисеминирана туберкулоза беше изследвано само едно дете, което бе отрицателно на трите имунологични теста, което доказва че при тежките форми на туберкулозно заболяване и трите теста нямат диагностична стойност.

При извънбелогробните форми на туберкулоза всички деца реагираха на туберкулонова проба на Манту, като 14.3% бяха отрицателни, 14.3% бяха нормергични, и 71.4% хиперергични. При ESAT6 отрицателните бяха 14.3%, 28.6% реагираха на ESAT6, 28.6% на CFP10 и 28.6% на двата антигена. При QFT позитивни бяха 100%. Това показва по-големите диагностични възможности на QFT теста (фиг. 4).

Двете деца с казеозна пневмония дадоха позитивни реакции на двата IGRA теста. При изследване на БЦЖ статуса при тези деца не се установи разлика между реакциите на TST при децата с белег и без белег. При T SPOT TB 35.3% са отрицателни при децата без белег и 12.5% при децата с белег от БЦЖ. При QFT се повтаря тази зависимост 29.4% срещу 10%, но не се намира статистическа зависимост.

Всички контактни деца реагираха на туберкулиновия тест на Манту като 60% бяха нормергични и 40% хиперергични, като има статистически значима зависимост между контакта и реакциите на Манту Likelihood Ratio 9,204-df2-p0,010. Интересно е, че при IGRA тестовете относителният дял на реагиращите с отрицателни проби е по-голям при контактните деца, което от една страна може да се обясни с по-тежките форми на туберкулоза в тази група, а от друга с малката възраст на децата, при които е установено, че реактивността спрямо IGRA тестовете е по-ниска.



Фиг. 4. Относителен дял на реакциите при извънбелогробна туберкулоза

Разбира се, за нас най-интересно бе отношението на трите теста помежду им. При TST и T SPOT TB процентът на конкорданс беше 84%, а карра 0.632, което говори за много добра корелация между двата теста.

При TST и QFT тест процентът на конкорданс е 72%, а карра 0.286, което говори за слаба корелация между двата теста.

Най-изявена бе корелацията между двата IGRA теста – процент на конкорданс 80%, а карра 0.490, което говори за добра корелация между двата теста, но най-добро е между TST и T SPOT TB, което е избраната методика за нашето проучване.

Прави впечатление, че при използване на TST и T SPOT TB имаме позитивни резултати в 88.2%, при TST и QFT – 88.2%, а при двата IGRA теста 94.1%. Всичко това показва, че при използване на комбинация от тестове имаме много високи диагностични резултати.

Броят на изследваните деца е сравнително малък, поради което изводите ни по отношение на диагностичните възможности на трите теста не могат да бъдат категорични. Необходими са мащабни проучвания в тази посока преди въвеждането на IGRA тестовете в клиничната практика.

При ЛТБИ 80% от децата, реагиращи на туберкулинова проба на Манту, са нормергични и 20% хиперергични. Нормергичните проби са с качествени белези на вирулентност. 83.3% бяха отрицателни на T SPOT TB и само 16.7% позитивни. При QFT тест 50% са отрицателни и 50% позитивни.

Децата в тази група са само 5, тъй че получените резултати не могат да се интерпретират.

В резултат на изложеното до тук си позволим да направим следните изводи:

1. Двата IGRA теста са почти еднакви при извънбелозробни форми на туберкулоза.

2. QFT има по-високи диагностични възможности при туберкулоза на трахеобронхиалните лимфни възли и при първичен туберкулозен комплекс.

3. При TST и T SPOT TB процентът на конкорданс беше 84%, а карра 0.632, което говори за много добра корелация между двата теста.

4. При TST и QFT тестове процентът на конкорданс е 72%, а карра 0.286, което говори за много слаба на корелация между двата теста.

5. Най-изявена бе корелацията между двата IGRA теста. Процентът на конкорданс е 80%, а карра 0.490, което говори за добра корелация.

#### Литература

1. 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.
2. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000; 356:1099–104.
3. Beffa P, Zellweger A, Janssens JP, et al. Indeterminate test results of T-SPOT.TB performed under routine field conditions. *Eur Respir J* 2007; 31:842–846.
4. Ben J. Marais, Robert P. Gie, H. Simon Schaaf, Nulda Beyers, Peter R. Donald and Jeff R. Starke Childhood Pulmonary Tuberculosis Old Wisdom and New Challenges. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2006; Vol 173. pp. 1078–1090.
5. Bianchi, Leila MD; Galli, Luisa MD; Moriondo, Maria BSc; Veneruso, Giuseppina MD, PhD; Becciolini, Laura BSc, PhD; Azzari, Chiara MD, PhD; Chiappini, Elena MD, PhD; de Martino, Maurizio MD Interferon-Gamma Release Assay Improves the Diagnosis of Tuberculosis in Children. *The Pediatric Infectious Disease Journal* June 2009; Volume 28, Issue 6, pp 510–514.
6. Bothamley G. H., L. Ditiu, G. B. Migliori, C. Lange and TBNET contributors Active case finding of tuberculosis in Europe: a Tuberculosis Network European Trials Group (TBNET) survey. *Eur Respir J* 2008; 32:1023–1030.
7. 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.
8. Enarson PM, Enarson DA, Gie RP. Management of tuberculosis in children in low-income countries. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10:119–232.
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- $\gamma$  release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. *Eur Respir J* 2009; 33:1374–1382.
10. Lalvani A., L. Richeldi, H. Kunst. Interferon gamma assays for tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2005; 5:322–324.
11. Nicol MP, Wilkinson RJ. The clinical consequences of strain diversity in Mycobacterium tuberculosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008.
12. Nicol MP, Kampmann B, Lawrence P, Wood K, Pienaar S, Pienaar D, Eley B, Levin M, Beatty D, Anderson S. T. Enhanced antimycobacterial immunity in children with erythema nodosum and a positive tuberculin skin test. *J Invest Dermatol* 2007; 127(9):2152–7.
13. Nicol MP, Wilkinson RJ. Evidence guiding the treatment of children with mycobacterial diseases. *Clin Infect Dis* 2007; 44(8):1065–6.
14. Nicol M P, Pienaar D, Wood K, et al. Enzyme-linked immunospot assay responses to early secretory antigenic target 6, culture filtrate protein 10, and purified protein derivative among children with tuberculosis: implications for diagnosis and monitoring of therapy. *Clin Infect Dis* 2005; 40:1301–8.
15. Pai M, Joshi R, Bandyopadhyay M, Narang P, Dogra S, Taksande B, Kalantri S. Sensitivity of a whole-blood interferon-gamma assay among patients with pulmonary tuberculosis and variations in T cell responses during anti-tuberculosis treatment. *Infection* 2007; 35:98–103.
16. Starke JR. Pediatric tuberculosis: time for a new approach. *Tuberculosis (Edinb)* 2003; 83:208–12.