

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ  
КАТЕДРА ПО БЕЛОДРОБНИ БОЛЕСТИ

Д-р Наталия Николаева Габровска

**СРАВНИТЕЛНО ПРОУЧВАНЕ ВЪРХУ ДИАГНОСТИЧНАТА  
СТОЙНОСТ НА СЪВРЕМЕНЕН ГАМА-ИНТЕРФЕРОНОВ  
ТЕСТ, ПРИЛОЖЕН В КРЪВ И БРОНХОАЛВЕОЛАРЕН ЛАВАЖ  
ПРИ ДЕЦА, СУСПЕКТНИ ЗА ТУБЕРКУЛОЗА**

## АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на  
образователна и научна степен  
”ДОКТОР”

Научна специалност: Белодробни болести

Научни ръководители: Проф. д-р Димитър Костадинов, дм  
Доц. д-р Светлана Велизарова, дм

София, 2019 г.

Дисертационният труд е разработен върху 100 страници, съдържа 30 фигури, 21 таблици и едно приложение. Библиографията включва 171 източника, от които 25 са на кирилица, останалите – на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и определен на Катедрен съвет на Катедра „Белодробни болести“, Медицински факултет, Медицински университет – София, състоял се на 14.05.2019 г.

Състав на Научното жури:

1. Проф. д-р Димитър Костадинов, дм
2. Проф. д-р Огнян Георгиев, дм
3. Проф. д-р Мария Стоименова - Николова, дмн
4. Проф. д-р Благой Маринов, дм
5. Проф. д-р Тоньо Шмилев, дм

Резервни членове:

1. Доц. д-р Светлана Велизарова, дм
2. Доц. д-р Бойко Шентов, дм

Материалите по защитата са на разположение в Деловодството на Катедра по Белодробни болести и в отдел „Наука“ на МФ, Медицински университет – София.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 10.10.2019 г. от 13.30 часа в Aula Maxima на УМБАЛ “Св. Екатерина” ЕАД.

## СЪДЪРЖАНИЕ

<b>I. УВОД</b> .....	6
<b>II. ЦЕЛ</b> .....	8
<b>III. ЗАДАЧИ</b> .....	8
<b>IV. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ</b> .....	9
<b>V. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ</b> .....	19
1. Клинико-епидемиологична характеристика на деца, суспектни за туберкулозно заболяване, прилагане на методи за комплексна диагностика на заболяването.....	19
1.1. Разпределение на изследваните деца по възраст.....	20
1.2. Разпределение на изследваните деца по пол.....	21
1.3. Разпределение на изследваните деца по наличие на контакт с туберкулозно болен.....	21
1.4. Разпределение на изследваните деца по наличие на BCG белег.....	23
1.5. Разпределение на изследваните деца по резултат от приложена туберкулинова проба на Mantoux.....	24
1.6. Разпределение на изследваните деца по диагноза.....	29
1.7. Разпределение на изследваните деца по налични рентгеноморфологични изменения.....	33
1.8. Честотата на засягане на отделните групи лимфни възли при децата с диагноза Туберкулозен бронхаденит.....	34
1.9. Честота на локализация на засегнатите лимфни възли при децата с диагноза Туберкулозен бронхаденит.....	35
1.10. Разпределение на изследваните деца по наличие на туберкулозно заболяване.....	36

2. Фибробронхоскопия и взимане на БАЛ.....	38
3. Микробиологично и цитологично изследване на БАЛ и анализиране на получените резултати.....	40
4. Имунологично изследване с гама-интерферонов тест (T-SPOT.TB) в кръв и в БАЛ.....	41
4.1. Разпределение на изследваните деца по резултат от приложен T-SPOT.TB в кръв и в БАЛ.....	41
4.2. Сравнение на получените резултати от T-SPOT.TB в кръв и в БАЛ с аналогични резултати на възрастни пациенти.....	45
4.3. Зависимост между получените имунологични резултати и определени характеристики (възраст, диагноза, контакт с туберкулозно болен, проба на Mantoux, BCG белег, цитологичен резултат, локални изменения) на изследваните деца.....	46
4.4. Определяне на показателите чувствителност и специфичност на T-SPOT.TB теста в БАЛ и сравнение с тези на кръвния T-SPOT.TB тест.....	57
5. Оценка на необходимостта от провеждане на локална имунологична диагностика на туберкулозното заболяване в детска възраст.....	60
<b>VI. ИЗВОДИ.....</b>	<b>63</b>
<b>VII. ПРИНОСИ.....</b>	<b>65</b>
<b>VIII. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....</b>	<b>66</b>

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

M. tuberculosis - *Micobacterium tuberculosis*

IGRA - Interferon-Gamma Release Assays

БАЛ - бронхоалвеоларен лаваж

ELISPOT - Enzyme-Linked ImmunoSpot

BCG - *Bacillus Calmette - Guérin*

PCR - Polymerase Chain Reaction полимеразна верижна реакция

PPD - Purified Protein Derivative

TST - Tuberculin Skin Test

КАТ - компютърна аксиална томография

ЯМР - ядрено-магнитен резонанс

IFN - interferon/интерферон

ТБ - туберкулоза/ туберкулозен

ЛТБИ - латентна туберкулозна инфекция

ХИВ (от англ. HIV) - човешки имунодефицитен вирус

НТМ - нетуберкулозни микобактерии

ESAT-6 - Early Secreted Antigen Target-6

CFP-10 - Culture Filtrate Protein-10

CI - доверителен интервал

БК - бактерий на Кох

RIF - rifampicin/рифампицин

## I. УВОД

Туберкулозата е сред водещите причини за болестност и смъртност в световен мащаб. Независимо от постоянното подобряване на диагностиката, ранното уточняване е трудно в значителна част от случаите.

Идентификацията на *M. tuberculosis* с културелно изследване остава златния диагностичен стандарт. Това, обаче отнема повече от две седмици и диагностичната му сензитивност не надхвърля 80%.

В детска възраст от съществено значение е бързото поставяне на диагнозата туберкулоза и своевременното започване на специфично лечение. По литературни данни обаче, много малък процент от децата (8-15%), болни от туберкулоза, са бацилоотделители, т.е при детската популация не е възможно изцяло да се разчита на микробиологичното изследване за диагностично уточняване на туберкулозното заболяване.

Бързата диагностика на туберкулозата е трудна и когато първите микробиологични изследвания (микроскопия на храчка или стомашно-примивни води) са с отрицателен резултат.

В имунологичната диагностика на инфектирането на макроорганизма с *M. tuberculosis* вече повече от 10 години успешно се прилагат т.н. IGRA (IFN-gamma Release Assays) тестове - квантиферонов тест и T-SPOT.TB, чието основно предимство е висока им специфичност (специфичността на T-SPOT.TB е 97.1% [95% CI: 86.8-99.9%], а чувствителността на теста, установена при пациенти с активна туберкулоза е 95.6%). Обичайно те се прилагат като се използва венозна кръв от пациента. Други телесни течности, като бронхоалвеоларен лаваж, плеврални изливи или ликвор също са успешно изследвани (макар и не толкова рутинно в клиничната практика) с T-SPOT.TB теста с цел бърза **локална** идентификация на туберкулозната болест.

Ето защо, независимо от инвазивния характер на диагностичния метод, локалната имунодиагностика (имунологичен тест, приложен върху бронхоалвеоларна лаважна течност) е възможно да бъде обещаващ и бърз метод за диагностика на туберкулозно заболяване при суспектно болни деца.

## **II. ЦЕЛ**

Да се оцени диагностичната стойност, ефективност, безопасност и приложимост на съвременен имунологичен гама-интерферонов тест за диагностика на туберкуозна инфекция и заболяване (T-SPOT.TB), приложен върху два вида биологични течности – периферна венозна кръв и БАЛ при деца, суспектни за туберкуозно заболяване.

## **III. ЗАДАЧИ**

1. Да се направи клинично-епидемиологична характеристика на деца, суспектни за туберкуоза и да се приложат методите за комплексна диагностика на заболяването.

2. Да се проведе фибробронхоскопия с вземане на БАЛ.

3. Да се изследва БАЛ микробиологично и цитологично и да се анализират получените резултати.

4. Да се проведе имунологично изследване с гама-интерферонов тест (T-SPOT.TB) в кръв и в БАЛ.

4.1. Да се анализира разпределението на изследваните деца по резултат от приложения T-SPOT.TB тест в кръв и в БАЛ.

4.2. Да се сравнят резултатите от T-SPOT.TB теста в кръв и в БАЛ с аналогични резултати на възрастни пациенти.

4.3. Да се потърси зависимост между получените имунологични резултати и определени характеристики (възраст, диагноза, контакт с туберкуозно болен, проба на Mantoux, BCG белег, цитологичен резултат, локални изменения) на изследваните деца.

4.4. Да се определят показателите чувствителност и специфичност на T-SPOT.TB теста в БАЛ и да се сравнят с тези на кръвния T-SPOT.TB тест.

5. Да се оцени необходимостта от провеждане на локална имунологична диагностика на туберкуозното заболяване в детска възраст.

## **IV. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**

### **1. Материал**

#### **1.1. Дизайн на проучването**

Проучването е проспективно. Брой на участниците – 30 (подлежащи на статистическа обработка) + 1 (положителен контролен пациент). Осъществено е след спечелването на Научен проект към МУ - София.

Пациентите са включени в проучването след интервюиране и подписване на писмено информирано съгласие от родител (при малолетните лица) и от дете и родител (при непълнолетните лица). Бронхоскопското изследване е извършено от бронхолог със съответна специалност и опит. Имунологичните изследвания са проведени според препоръките на фирмата - производител на теста в сертифицирана имунологична лаборатория.

Клиничните данни са събирани в рамките на болничния престой. Усложнения и важни детайли са документирани и анализирани.

#### **1.2. Участници в проучването**

Деца на възраст от 7 до 17,9 години, хоспитализирани в Детска клиника на МБАЛББ „Св. София” ЕАД, гр. София за периода октомври 2017 - декември 2018 г. Клиниката е единствената в страната за диагностика и лечение на детска туберкулоза. Пациентите подлежат на диагностика и евентуално лечение на туберкулозно заболяване. Всички подбрани пациенти са със съмнение за туберкулозна инфекция/ болест. В изследването се включиха деца с риск от инфекция (контактни на БК положителни възрастни), деца с ЛТБИ или със съмнение за активна туберкулоза. В

проучването са включени само болни, при които се предвижда провеждане на бронхоскопско изследване.

#### **Критерии за включване:**

- наличие на съмнение за туберкулозно заболяване и отрицателен БК резултат от микроскопия на микробиологичен материал (храчка или стомашно-промивни води)
- възраст между 7 и 17,9 години
- подписано информирано съгласие

#### **Критерии за изключване:**

- противопоказания (абсолютни и относителни) за провеждане на бронхоскопско изследване
- отказ от участие в проучването

Участниците имаха право да се откажат от проучването на всеки негов етап.

Контролен пациент - положителна контрола

В изследването се включи и 13-годишно момче, при което се установи значително бацилоотделяне (3+) още от първата микроскопия на храчка, впоследствие диагнозата бе потвърдена и с културелно изследване. В резултат на проведените образни изследвания (пулмография, КАТ) при пациента се установи Инфилтративно-пневмонична форма на туберкулоза с кухинна сянка в десен долен белодробен дял (6-ти сегмент) с размери около 3 см в диаметър и плътна стена.

Независимо от това, че детето е бацилоотделител с потвърдена диагноза, то се включи в проучването и при него също бе проведен T-SPOT.TB тест в кръв и в БАЛ с оглед на осъществяване на качествена и

количествена оценка на резултатите от имунологичния тест в двата вида биологични течности при доказано болен пациент.

Получените при това дете резултати са изключени от статистическата обработка (като бацилоотделител то не отговаря на критериите за включване), а имат само сравнителна стойност.

## **2. Методи**

### **2.1. Анамнеза**

За скриниране на пациентите според критериите за включване и изключване се проведе медицинско интервю с родителите и детето със снемане на подробна анамнеза относно епидемиологичните данни, клиничните оплаквания, имунизационния статус на детето, битовите условия на живот, проведените до момента целенасочени изследвания и получените резултати. Цялата събрана информация бе надлежно отразена в "Историята на заболяването" на детето.

### **2.2. Физикален преглед и провеждане на стандартни изследвания**

На участниците в проучването бе снет пълен физикален преглед, след което се проведе лабораторни и образни изследвания, предхождащи осъществяването на бронхоскопското изследване.

На всички деца, включени в проучването се взе кръв за изследване на пълна кръвна картина с диференциално броење и утайка, биохимични изследвания (ASAT, ALAT, GGTP, урея креатинин); обикновена урина; проведе се трикратно микробиологично изследване на стомашно-промивни води (храчка) за БК на микроскопия и на посявка. На всички пациенти се проведе обзорна рентгенография на гръден кош (фасова и профилна при

необходимост), на част от тях - КАТ на гръден кош. На всички деца, които нямаха направена туберкулинова проба на Mantoux в рамките на месец преди хоспитализацията се проведе такава с 5 ТЕ PPD, като беше отчитана на 24-ти, 48-ми, 72-ри час, 5-ти и 7-ми ден количествено и качествено.

### **2.3. Взимане на биологични материали - венозна кръв и БАЛ за провеждане на T-SPOT.TB тест**

На всички, включени в проучването деца, се взе периферна венозна кръв (от 4 до 8 мл) за имунологично изследване от квалифициран медицински персонал, която се съхрани, транспортира и обработи спрямо изискванията на производителя на T-SPOT.TB (OxfordImmunotec Ltd., Abingdon, UK).

Според достъпната ни научна литература съществуват различни методики за вземането на бронхоалвеоларна лаважна течност в детска възраст, но липсва приет единен консенсус.

В настоящото проучване се предлага следния модел на работа:

Всички деца, участвали в изследването, са премедикираха с Midazolam 0,5 mg/kg p.os, поради необходимостта от поставяне на периферен венозен източник. При част от децата се приложи локална, при останалите - обща анестезия. При прилагане на локална анестезия, се използва премедикация с Atropin 0,01 mg/kg i.v. и впръскване на Lidocaine 2% локално. При прилагане на обща анестезия, след непосредствената премедикация с Atropin 0,01 mg/kg i.v. и Fentanyl 2 mcg/kg i.v., се направи увод в анестезията с Propofol 3-6 mg/kg i.v., при титриране на дозата, след което се постави супраглотично устройство тип "i-gel" за поддържане на дихателните пътища. Процедурата се осъществи в условията на краткотрайна венозна анестезия и обдишване с вентилатор на Sanders през ларингеална маска. При мониториране на жизнени показатели - сърдечна честота, ЕКГ,

пулсоксиметрия се осъществи бронхологично изследване с флексибилен бронхоскоп (на фирми OLYMPUS, PENTAX, FUJINON) с външен диаметър 4,4-4,9 мм и работен канал от 2,0 до 2,2 мм. Достъпът бе назотрахеален (при локална анестезия, като кислород се подава през кислородна маска или назален катетър) или оротрахеален (при обща анестезия). С фибробронхоскопът се направи цялостен оглед на трахеобронхиалното дърво. След оценка на локалния ендоскопски статус, съобразно физикална находка и/ или рентгеноморфологичните изменения, се осъществиха диагностичните процедури - БАЛ и/ или фиброщипкова биопсия. БАЛ се осъществи по приет от повечето ендоскописти метод за взимане на материал от среден дял или съответно от лингулата (в зависимост от локализацията на измененията). Въведе се, посегментно, по 20 мл в сегментен бронх, предварително затоплен до 37°C физиологичен разтвор. Инсталирането се осъществи бавно, под мануален контрол. Максималното количество въведен физиологичен разтвор бе 80 мл - средно 60 мл. Впоследствие се реаспирира около 60% от въведеното количество физиологичен разтвор. Аспирицията се осъществи плавно веднага след въвеждането. Полученият аспират се съхрани, транспортира и обработи спрямо изискванията на производителя на T-SPOT.TB теста (OxfordImmunotec Ltd., Abingdon, UK).

След провеждането на бронхологичното изследване, пациентите бяха под активно наблюдение в Детска клиника.

Освен за имунологична диагностика, БАЛ се изследва:

- за БК на директна микроскопия
- на посявка на твърда и течна хранителна среда
- хистологично

## 2.4. T-SPOT.TB тест

Имунологичното изследване на взетите биологични материали се осъществява в "Клиника по клинична имунология с банка за стволови клетки", болница "Александровска".

T-SPOT.TB тестът е *in vitro* диагностичен тест за откриване на ефекторни Т-клетки, отговарящи на стимулация с антигени на *M. tuberculosis* и е предназначен за употреба като помощно средство в диагностициране на туберкулозна инфекция. T-SPOT.TB тестът е опростен ензимносвързан имуноспот (ELISPOT) метод, който определя броя на специфичните активирани ефекторни Т-клетки.

Значително предимство на IGRA тестовете пред TST е обстоятелството, че в тях са включени отрицателна и положителна контрола. Отрицателната контрола показва нивото на неспецифична имунна реактивност, а положителната контрола, в която се измерва отговорът на Т-клетките към поликлонален митоген Фитохемаглутинин, показва функционалната активност на Т-лимфоцитите. При липсващ митогенен отговор, резултатът от теста е „неопределен”, но дава съществена информация за състоянието на имунната система, особено при имунокомпрометирани пациенти. За разлика от TST, IGRA тестовете могат да разграничат истински отрицателните резултати от анергичните.

В настоящото проучване БАЛ бе взет, съхранен и обработен спрямо Методическо указание за изследване на бронхоалвеоларна течност с T-SPOT.TB тест (Oxford Immunotec, Великобритания). Представеният протокол за БАЛ е разработен от Мартин Ернст, Forschungszentrum Borstel, Германия.

Първоначално се осъществява подготовка на пробата от БАЛ за извършването на T-SPOT.TB тест:

- Обемът на пробите от БАЛ варира от 20 ml до 200 ml. Течността от БАЛ се взима в контейнер със силиконизирано стъкло. Обемът на пробата

трябва да бъде колкото е възможно по-голям. Пробите се съхраняват при стайна температура или при 2-8 °С, без да се замразяват.

- Течността от БАЛ може да се филтрира чрез подходящ филтър, поради наличието на слузни материи. Може да се използва BD Falcon™ 100 µm клетъчен филтър за еднократна употреба (кат. номер 352360). Като алтернатива, може да се използва и автоклавно неръждаем филтър с размер на отворите 0.2 мм, използван за филтриране на чай. Той трябва да бъде увит в алуминиево фолио, когато е в автоклав.

- Филтрираният БАЛ се поставя в 50 ml полипропиленови центрофужни епруветки (напр. Nunc).

- Епруветките се центрофугират при 465 g в продължение на 15 минути при 8°C, след което супернатантата се отстранява.

Получената утайка може да е черна поради цигарения дим, който се абсорбира от макрофагите.

БАЛ съдържа по-висока концентрация на макрофаги в сравнение с Т-лимфоцитите, отколкото в кръвта. Това е важно за по-късното разреждане на клетъчната суспензия.

Супернатантата се отстранява с пипета, вместо да се отдекантира, тъй като утайката от БАЛ може да не е стабилна и може да бъде изхвърлена със супернатанта.

- Ако утайката е явно "замърсена" с еритроцити, се прави опит да бъдат премахнати, като се извършва кратко хипотонично шоково третиране чрез повторно суспендиране на утайката в 2 ml стерилна, филтрирана дестилирана вода и последващо инкубиране за 50-60 секунди, след което се възстановява осмолалитета, като се добавя 2 ml двукратно концентриран PBS (фосфатен физиологичен разтвор). След това клетъчната суспензия се разрежда с нормален PBS или с културелна среда и отново се центрофугира (465 g в продължение на 15 минути при 8°C).

Клетките не трябва да се оставят повече от 50 - 60 секунди в дестилирана вода. Червените кръвни клетки ще бъдат унищожени през това време. По-дългата инкубация ще унищожи някои от белите кръвни клетки.

Резултатите могат да бъдат подобрили чрез добавяне на 2 ml фетален телешки серум (FCS) към епруветката преди поставянето на клетъчната суспензия. Това може да адсорбира примесите в пробата. След центрофугиране полиморфнонуклеарните клетки (PBMС) са на слой под FCS. След това слой FCS може да бъде отстранен с пипета.

Утайката се ресуспендира в 0.7 ml от културелната среда AIM V и се започва T-SPOT.TB теста.

Клетките се преброяват като се използва хемоцитометър на Neubauer, за да се избегнат грешки в измерването, дължащи се на прекомерния брой макрофаги. Освен това, при добавяне на клетъчната суспензия, тя се поставя в центъра на ямката за подпомагане равномерното разпределение на клетките.

Необходими са 200 000 клетки на ямка, поради прекомерния брой макрофаги, които могат да блокират стеарично антителата в ямката. При силно мътна проба от БАЛ, пробата може да наложи да се разреди до 100 000 клетки/ ямка.

Ако клетъчната суспензия изглежда тъмна, препоръчително е ямките да се измият от 6 до 8 пъти с PBS с последваща инкубация през нощта.

Този тест бе извършван според принципите за Добрата Лабораторна Практика и при стриктно спазване на инструкциите за употреба. Бяха използвани Визуален Наръчник на методиката и Технически Справочник, които описват събирането и подготовката на пробите, избора на средите за клетъчни култури и методите за броене на „спотове”. Те са изготвени от фирмата-производител на теста.

### **3. Събиране и обработка на информацията, статистическа обработка на резултатите**

Клиничните данни бяха събирани в рамките на болничния престой.

Документирани са данните от анамнезата, физикалния статус и проведените изследвания (лабораторни, образни, бронхоскопски, имунологични).

Получените резултати бяха статистически обработени и нагледно представени. Резултатите са анализирани за един конкретен случай и за групата като цяло.

В научната литература липсват публикации по проблема в детска възраст. Потенциално възможно е сравняване на статистически обработените резултати с тези на историческа контролна група (от възрастни участници) и последващото им анализиране.

#### **Използвани статистически методи:**

##### 1. Дескриптивна статистика

- средна аритметична, медиана (Mean, Median)
- стандартно отклонение (SD)
- честотни таблици

##### 2. Хи-квадрат тест (Chi-square test) или точен тест на Фишер (Fisher's exact test)

##### 3. Знаково-рангов тест на Уилкоксон (Wilcoxon Signed Ranks Test)

Приетото критично ниво на значимост е  $\alpha=0,05$ . Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато  $p$  стойността ( $p$ -value) е по-малка от  $\alpha$ . За обработка на данните от проучването е използван специализирания статистически пакет SPSS версия 13.0.

Чувствителност и специфичност – статистически мерки за изпълнението на двоичен тест на класиране.

Чувствителност - измерва реалните позитивни идентифицирани като такива (процента на болните, правилно идентифицирани като болни).

Специфичност - реалните негативни правилно идентифицирани като такива (процента на здравите, правилно идентифицирани като такива).

## V. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

### 1. Клинико-епидемиологична характеристика на деца, суспектни за туберкулозно заболяване, прилагане на методи за комплексна диагностика на заболяването

В настоящото проучване бяха включени деца със съмнение за туберкулозно заболяване, чиито първи микробиологични изследвания (микроскопия на храчка или стомашно промивни води) са с отрицателен резултат.

Отделно от групата бе представен един пациент с микробиологично (микроскопия, културелно изследване) потвърдена диагноза - Инфилтративно-пневмонична форма на туберкулоза. При него се позитивира и кръвния, и лаважния T-SPOT.TB в много висока степен - кръвен имунологичен тест - панел А - 32, панел В - 54, лаважен имунологичен тест - панел А - 151, панел В - 160. Лаважната течност при него бе взета от десен долен белодробен дял (основно S6), тъй като каверната е разположена в 6-ти сегмент вдясно. Позитивният лаважен тест с голям брой спотове в двата панела е резултат именно на локалното взимане на БАЛ от мястото в белия дроб с големи морфологични изменения. Резултатите при това дете съвпадат с тези при възрастните пациенти - той е болен от вторична форма на туберкулоза (на 8-годишна възраст е боледувал от Първичен туберкулозен комплекс, като не е провел пълния курс на лечение) със значителни рентгено-морфологични изменения в белия дроб. Протичането на заболяването му е сходно с това на възрастните, имунологичните резултати - също.

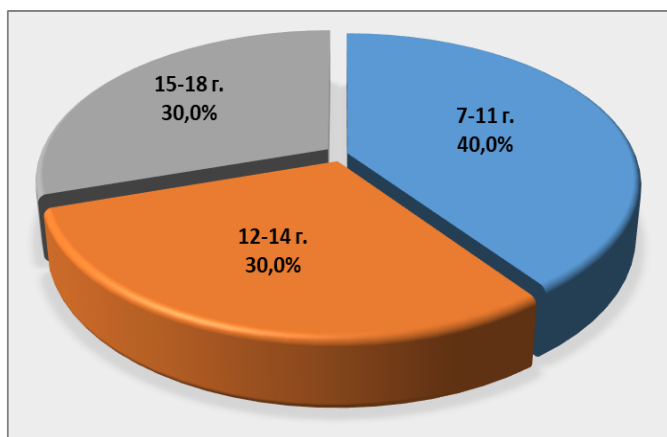
## 1.1. Разпределение на изследваните деца по възраст

Включените в изследването деца са на средна възраст  $12,74 \pm 2,80$  години (диапазон от 7 до 17,9 години), (табл. 1).

Табл. 1. Средна възраст на изследваните деца

	N	Mean	Median	SD	Min	Max
<b>Възраст</b>	30	12,74	11,78	2,80	7,42	17,66

Според педиатричната класификация децата от 7 до 11 години са в ранна училищна възраст, от 12 до 14 години - в средна училищна възраст, а от 15 до 18 години - в юношеска възраст.



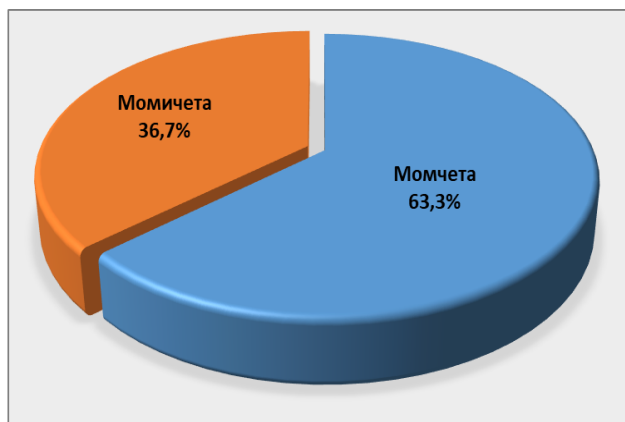
Фиг. 1. Разпределение на изследваните деца по възрастови групи

Средната възраст на изследваните деца е  $12,74 \pm 2,80$  години - пред- и пубертетна възраст, която предвид хормоналната нестабилност е изключително благоприятна за изявата на туберкулозното заболяване. Разпределението в трите описани възрастови групи е несигнификантно - почти

по равен дял деца във всяка една от тях - 40% са във възрастова група 7-11 г., 30% - във възрастова група 12-14 г., 30% - във възрастова група - 15-18 г. (фиг. 1).

## 1.2. Разпределение на изследваните деца по пол

При разпределение на всички изследвани деца по полов признак се наблюдава превес на момчетата - 63,3% (n=19), спрямо момичетата - 36,7% (n=11), (фиг. 2)



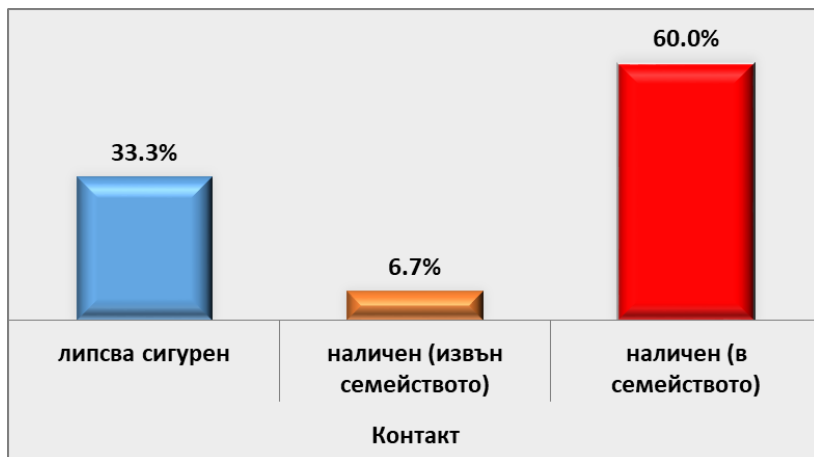
Фиг. 2. Разпределение на изследваните деца по пол

При разпределението по пол със съществен превес е мъжкият пол, което съвпада и с българските, и със световните литературни данни - мъжкият пол е засегнат 2 пъти по-често от туберкулозното заболяване.

## 1.3. Разпределение на изследваните деца по наличие на контакт с туберкулозно болен

Анамнестични данни за наличен сигурен контакт с друг туберкулозно болен пациент има при голяма част от изследваните деца -

66,7% (n=20), като значително преобладават децата с наличен тесен, битов и ежедневен контакт с туберкулозно болен в семейството, живеещ в един дом със съответното дете - 60% (n=18). При 33,3% (n=10) от изследваните деца липсват сигурни данни за контакт, което не отхвърля, разбира се, възможността за съществуването му (фиг. 3).



Фиг. 3. Разпределение на изследваните деца по наличен контакт с ТБ болен

Получените резултати са в подкрепа на литературните данни, посочващи, че инфектирането на деца с туберкулоза се осъществява обичайно в техните семейства, т.е. има бацилоотделител в близкото обкръжение на детето. Контагиозният индекс на туберкулозата, сравнен със същия показател на други въздушно-капкови инфекциозни заболявания, е нисък (около 20%), което показва, че инфектирането на пациенти чрез спорадичен контакт е относително рядко. При диагностицирано болно дете, от изключителна важност е откриването на източника на инфекцията (обичайно член на семейството) и неговото обезбацилиране, защото след началния етап на лечение на детето в Детска клиника, то се връща в семейството си за

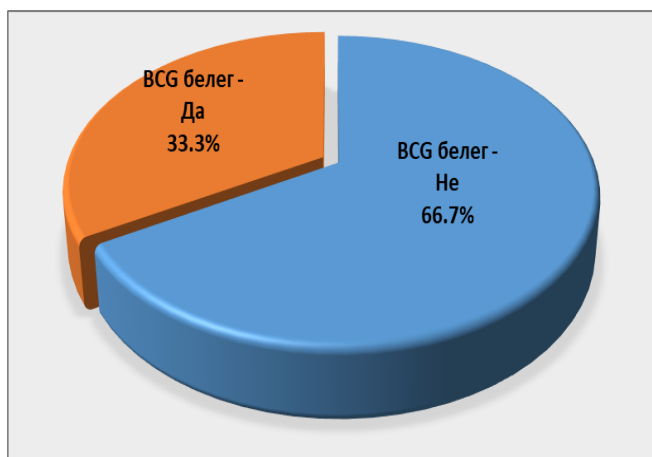
провеждане на продължителния етап на противотуберкулозното лечение и е необходимо да се предотврати евентуалното му реинфектиране.

#### 1.4. Разпределение на изследваните деца по наличие на BCG белег

Наличието на BCG белег на лявото рамо на детето е сигурно доказателство за приложението на противотуберкулозна ваксина (ваксинация и/ или реваксинация). Липсата на този белег се интерпретира по един от следните начини:

- Липса на специфична ваксинопрофилактика
- Приложена ваксина, но не според строгите изисквания на разтваряне и апликация, в резултат на което липсва сформирани имунитет
- Приложена ваксина, наличие на сформирани имунитет, но липса на кожен белег при детето, поради индивидуални особености в реактивността му.

Все пак е важно да се отбележи, че при 2/3 от децата - 66,7% (n=20) липсва белег, удостоверяващ налична специфична ваксинопрофилактика (фиг. 4).



Фиг. 4. Разпределение на изследваните деца по наличие на BCG белег

Редица държави в Европа и света не прилагат специфична противотуберкуозна ваксина или ваксинират само определени рискови групи. По този начин се повишава значително диагностичната стойност на туберкулиновата проба на Mantoux (с нея е трудно да се различи ваксинална от вирулентна чувствителност). В тези държави се разчита изключително на добрия контрол на импортната инфекция и в тях и заболяемостта от туберкулоза остава ниска. За съжаление, през последните години, свободното движение на големи маси от хора (вкл. мигрантски вълни), идващи от държави с висока заболяемост, оказва една неблагоприятна тенденция.

Противотуберкуозната ваксина не осигурява траен пожизнен имунитет (5-7 години ефективност за българската BCG ваксина), но осигурява протекция на организма от тежките хематогенно-дисеминирани форми на заболяването, вкл. Туберкулозния менингоенцефалит, която остава най-сериозната форма на туберкулозно заболяване със съмнителен изход по отношение на преживяемост и интактен неврологичен и интелектуален статус.

### **1.5. Разпределение на изследваните деца по резултат от приложена туберкулинова проба на Mantoux**

На фиг. 5 е представена честотата на отчетените отрицателни, нормергични и хиперергични туберкулинови проби. При 60% (n=18) от изследваните деца на 72-ри час след приложението на туберкулин се измерва напречен размер на сформирания инфилтрат 15 или повече мм. При 26,7% (n=8) от децата TST е отчетен като нормергичен (между 6 и 14 мм) и при 13,3% (n=4) от децата TST е отрицателен ( $\leq$  на 5 мм).



*Фиг. 5. Разпределение на изследваните деца по резултат от туберкулинова проба на Mantoux*

В направеното проучване при повече от половината изследвани деца на 72-ри час след приложението на туберкулинова проба на Mantoux се измерва напречен размер на сформирания инфилтрат 15 или повече мм. Отчетен по този начин TST се интерпретира като хиперергичен и това е критерий за поставяне на диагноза ЛТБИ. Ако се установят и морфологични изменения, тогава се диагностицира активно туберкулозно заболяване. Сам по себе си TST е с чувствителност 70% и специфичност около 56% при ваксинирани с противотуберкулозна ваксина деца. Поради неговата ниска цена и лесна приложимост в България продължава да бъде първи скриниращ имунологичен тест за верифициране на туберкулозна инфекция. Значително се повишава диагностичната му стойност, използван заедно със съвременните кръвни имунологични методи, основаващи се на отделянето на гама-интерферон.

Търсейки връзка между приложена специфична имунопрофилактика (противотуберкулозна ваксина) и отчетената туберкулинова чувствителност се установи следното:

При всички деца с отрицателна туберкулинова проба на Mantoux (n=4) липсва BCG белег, при повече от половината деца (55,6%) с хиперергична туберкулинова проба също липсва белег от BCG ваксина, но при сходен процент (44,4%) от хиперергичните деца BCG белегът е наличен т.е. в конкретния случай не се отчита статистическа значимост ( $p=0,221$ ), (табл. 2).

Табл. 2. Разпределение на изследваните деца спрямо резултата от туберкулинова проба на Mantoux и наличието на BCG белег

BCG белег		Туберкулинова проба на Mantoux			Общо	P
		Отрицателна	Нормергична	Хиперергична		
Не	N	4	6	10	20	0,221
	%	100,0%	75,0%	55,6%	66,7%	
Да	N	0	2	8	10	
	%	0,0%	25,0%	44,4%	33,3%	
Общо	N	4	8	18	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Бе потърсена зависимост и между отчетения резултат от туберкулиновата проба на Mantoux и поставената диагноза при съответното дете.

Повече от половината от хиперергичните деца (55,6%) са с най-честата форма на туберкулоза сред децата - Туберкулозен бронхаденит, две от децата с хиперергичен TST са с Инфилтративно-пневмонична форма и 27,8% от децата с хиперергична туберкулинова проба на Mantoux са с диагноза ЛТБИ.

Прави впечатление, че и двете деца с Туберкулозен плеврит, детето с Първичен туберкулозен комплекс, както и едно от децата с Инфилтративно-

пневмонична форма на туберкулоза имат нормергична туберкулинова чувствителност.

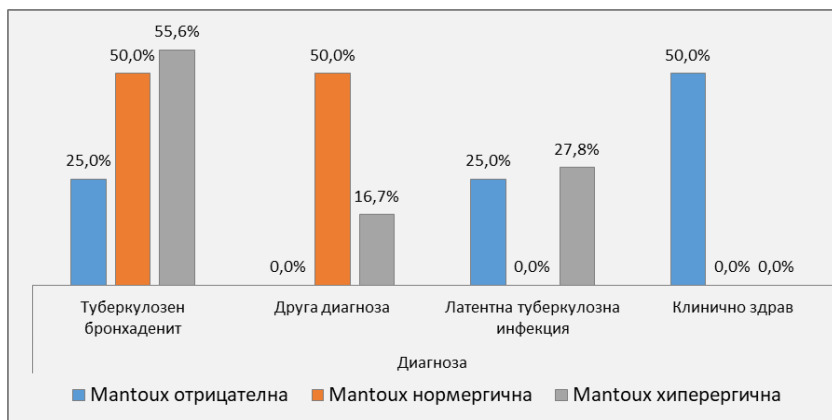
Всички клинично здрави деца имат TST, измерен 5 или под 5 мм ( $p=0,019$ ), (табл. 3, табл. 4), (фиг. 6).

Табл. 3. Разпределение на изследваните деца спрямо резултата от туберкулинова проба на Mantoux и поставената диагноза

Диагноза		Туберкулинова проба на Mantoux			Общо
		Отрицателна	Нормергична	Хиперергична	
Туберкулозен бронхаденит	N	1	4	10	15
	%	25,0%	50,0%	55,6%	50,0%
Инфилтративно-пневмонична туберкулоза	N	0	1	2	3
	%	0,0%	12,5%	11,1%	10,0%
Първичен туберкулозен комплекс	N	0	1	0	1
	%	0,0%	12,5%	0,0%	3,3%
Туберкулозен плеврит	N	0	2	0	2
	%	0,0%	25,0%	0,0%	6,7%
Латентна туберкулозна инфекция	N	1	0	5	6
	%	25,0%	0,0%	27,8%	20,0%
Ендобронхиална туберкулоза	N	0	0	1	1
	%	0,0%	0,0%	5,6%	3,3%
Клинично здрав	N	2	0	0	2
	%	50,0%	0,0%	0,0%	6,7%
Общо	N	4	8	18	30
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Табл. 4. Разпределение на изследваните деца спрямо резултата от туберкулинова проба на Mantoux и поставената диагноза (Fisher's Exact Test)

Диагноза		Туберкулинова проба на Mantoux			Общо	P
		Отрицателна	Нормергична	Хиперергична		
Туберкулозен бронхаденит	N	1	4	10	15	0,019
	%	25,0%	50,0%	55,6%	50,0%	
Друга диагноза	N	0	4	3	7	
	%	0,0%	50,0%	16,7%	23,3%	
Латентна туберкулозна инфекция	N	1	0	5	6	
	%	25,0%	0,0%	27,8%	20,0%	
Клинично здрав	N	2	0	0	2	
	%	50,0%	0,0%	0,0%	6,7%	
Общо	N	4	8	18	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	



Фиг. 6. Разпределение на изследваните деца спрямо резултата от туберкулинова проба на Mantoux и поставената диагноза

През 1978 г . П. Минчев и сътрудници установяват, че хиперергията, установена с туберкулинова проба на Mantoux (проведена с 5 ТЕ PPD) е белег за инфектиране на организма с *M. tuberculosis*. При болни от туберкулоза деца, TST може да бъде хиперергичен (15 и повече мм), но при умерена или тежка имуносупресия може да бъде отчетен съответно като нормергичен (между 6 и 14 мм) или анергичен (5 и под 5 мм).

Според редица публикации туберкулиновата проба на Mantoux има редица недостатъци, особено при имунизирани с противотуберкулозна ваксина деца, но остава лесен, бърз и евтин скриниращ тест за туберкулозна инфекция/ болест.

## **1.6. Разпределение на изследваните деца по диагноза**

Петдесет процента (n=15) от изследваните деца са диагностицирани с най-често срещаната форма на туберкулоза в детска възраст сред имунизирани деца - Туберкулоза на вътрегръдните лимфни възли или т.н. Туберкулозен бронхаденит. Инфилтративно-пневмоничната форма на туберкулоза е представена при 10% (n=3) от децата. Прави впечатление, че тази форма на вторична туберкулоза (характерна за възрастните пациенти) изпреварва по честота Първичния туберкулозен комплекс - 3,3% (n=1) - класическа форма на първична туберкулоза (характерна за децата) дори и в рамките на това малко проучване. Туберкулозният плеврит е представен при 6,7% (n=2) от децата, а Ендобронхиална туберкулоза се диагностицира при 3,3% (n=1) от децата. При 20% (n=6) от децата се диагностицира ЛТБИ, а 6,7% (n=2) от изследваните деца са клинично здрави (фиг. 7).



*Фиг. 7. Разпределение на изследваните деца по диагноза*

Тази промяна в разпределението на различните форми на заболяването (все по-често регистриране на вторични форми на туберкулоза сред децата) е резултат от късно поставена диагноза, от неефективно и недостатъчно лекуване на първична туберкулоза.

Анализира се и разпределението на децата в различните възрастови групи по съответно поставената диагноза, като най-важните резултати са както следва:

Почти половината от децата във всяка една от трите изследвани възрастови групи са с диагноза Туберкулозен бронхаденит, всички деца ( $n=3$ ) с една от тежко протичащите форми на заболяването - Инфилтративно-пневмонична туберкулоза са във възрастовата група - 15-18 г. - най-близка до тази на възрастните.

Във възрастовата група 7-11 г. - ранна училищна възраст или т.н. предпубертетна възраст 41,7% от децата са с установена ЛТБИ ( $p=0,069$ ), (табл. 5, табл. 6).

Табл. 5. Разпределение на изследваните деца в различните възрастови групи по поставена диагноза

Диагноза		Възрастова група			Общо
		7-11 г.	12-14 г.	15-18 г.	
Туберкулозен бронхаденит	N	6	5	4	15
	%	50,0%	55,6%	44,4%	50,0%
Инфилтративно- пневмонична туберкулоза	N	0	0	3	3
	%	0,0%	0,0%	33,3%	10,0%
Първичен туберкулозен комплекс	N	0	1	0	1
	%	0,0%	11,1%	0,0%	3,3%
Туберкулозен плеврит	N	0	1	1	2
	%	0,0%	11,1%	11,1%	6,7%
Латентна туберкулозна инфекция	N	5	0	1	6
	%	41,7%	0,0%	11,1%	20,0%
Ендобронхиална туберкулоза	N	1	0	0	1
	%	8,3%	0,0%	0,0%	3,3%
Клинично здрав	N	0	2	0	2
	%	0,0%	22,2%	0,0%	6,7%
Общо	N	12	9	9	30
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Табл.6. Разпределение на изследваните деца в различните възрастови групи по поставена диагноза (Fisher's Exact Test)

Диагноза		Възрастова група			Общо	P
		7-11 г.	12-14 г.	15-18 г.		
Туберкулозен бронхаденит	N	6	5	4	15	0,069
	%	50,0%	55,6%	44,4%	50,0%	
Друга диагноза	N	1	2	4	7	
	%	8,3%	22,2%	44,4%	23,3%	
Латентна туберкулозна инфекция	N	5	0	1	6	
	%	41,7%	0,0%	11,1%	20,0%	
Клинично здрав	N	0	2	0	2	
	%	0,0%	22,2%	0,0%	6,7%	
Общо	N	12	9	9	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

В настоящото проучване се установява, че почти половината от децата във всяка една от трите изследвани възрастови групи са с диагноза Туберкулозен бронхаденит, а всички деца (n=3) с една от тежко протичащите форми на заболяването - Инфилтративно-пневмонична туберкулоза са във възрастовата група - 15-18 г. - най-близка до тази на възрастните, за които именно са характерни вторичните форми на туберкулоза. Във възрастовата група 7-11 г. - ранна училищна възраст или т.н. предпубертетна възраст 41,7% от децата са с установена ЛТБИ, т.е. необходимо е стриктен контрол на състоянието на инфектираност (чрез TST или IGRA - тест) с оглед предотвратяване на развитието на активно туберкулозно заболяване.

## **1.7. Разпределение на изследваните деца по налични рентгеноморфологични изменения**

Разпределението на децата по установените рентгеноморфологични изменения (при част от децата потвърдени и с КАТ) съответства на разпределението им по диагнози.

Петдесет процента от изследваните деца ( $n=15$ ) имат образни данни за грануломатозно уголемени вътрегръдни лимфни възли, което подкрепя диагнозата Туберкулозен бронхаденит.

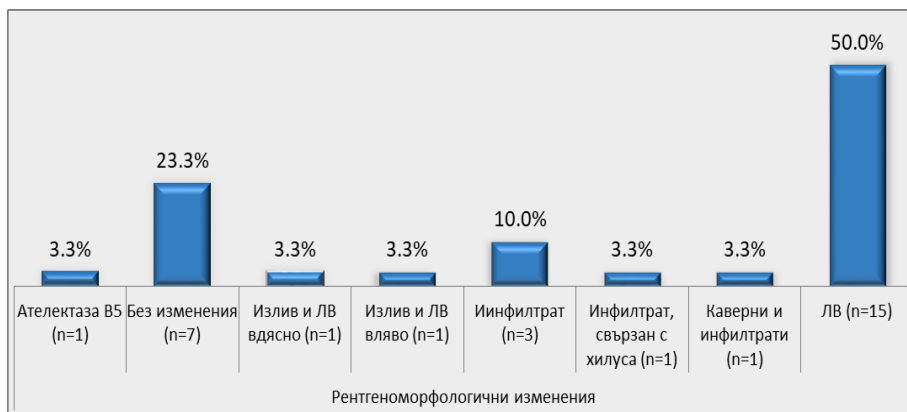
При 23,3% ( $n=7$ ) не се установяват рентгеноморфологични изменения - това са децата, които са клинично здрави ( $n=2$ ) и 5 от децата с ЛТБИ (при 6-тото дете с ЛТБИ се установи инфилтрат в средно дясно белодробно поле, впоследствие се диагностицира Белодробна ехинококоза).

При 10% +3,3% ( $n=3+1$ ) от изследваните деца има образни данни за белодробни инфилтрати и инфилтрат с каверна - тези изменения съответстват на 3-те деца, диагностицирани с Инфилтративно-пневмонична форма на туберкулоза и на 1 дете с Белодробна ехинококоза.

При 6,6% ( $n=2$ ) от децата имат рентгенологични данни за плеврален излив и уголемени вътрегръдни лимфни възли - те са с поставена диагноза Туберкулозен плеврит.

При едно дете на направената обзорна рентгенография има данни за първичен афект, лимфангит и лимфаденит - при него диагнозата е Първичен туберкулозен комплекс на белия дроб.

При едно дете има образни данни за ателектаза (5-ти сегмент вдясно). След проведените допълнителни изследвания при него се постави диагноза Ендобронхиална туберкулоза (фиг. 8).

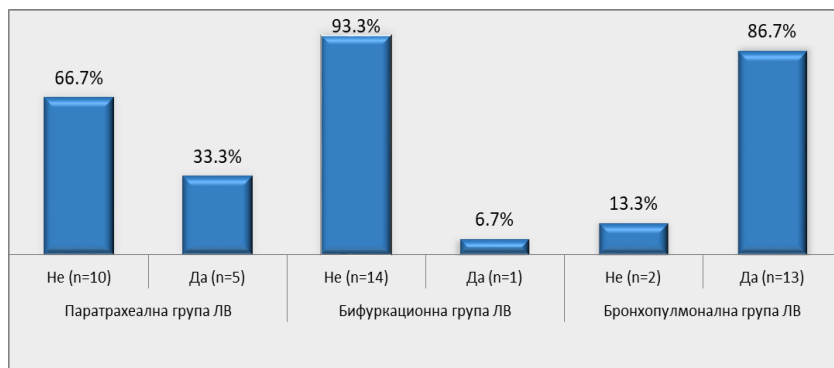


*Фиг. 8. Разпределение на изследваните деца по наличие на рентгеноморфологични изменения*

Рентгеноморфологичните изменения са силно насочващи и с висока диагностична стойност при туберкулозно болни деца. Измененията съответстват на различните форми на туберкулозното заболяване.

### **1.8. Честотата на засягане на отделните групи лимфни възли при децата с диагноза Туберкулозен бронхаденит**

При най-голям процент - 86,7% ( n=13) от изследваните деца се установява засягане на бронхопулмонална група лимфни възли - самостоятелно или в съчетание с други групи вътрегръдни лимфни възли (паратрахеални и/ или бифуркационна група), (фиг. 9).



Фиг. 9. Честота на засягане на отделните групи лимфни възли

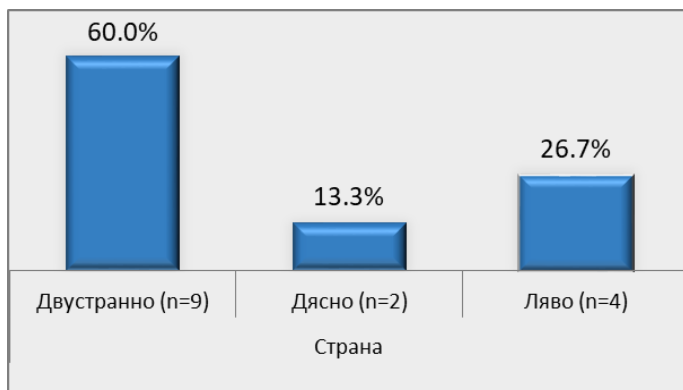
С методите на образната диагностика се установява, че при децата с Туберкулозен бронхаденит най-често е засегната бронхопулмоналната група лимфни възли, факт, който благоприятства осъществяването на локалната имунологична диагностика ( провеждане на гама-интерферонов тест в БАЛ).

В публикациите на Jafari и сътр. се описват възрастни пациенти с активна белодробна туберкулоза (в общоприетата класификация Туберкулозният бронхаденит принадлежи към извънбелодробните форми на туберкулоза). Именно на тях е проведена специфична локална имунодиагностика.

Поради липсата на проучвания по темата сред детската популация, получените от настоящото изследване резултати са сравнени с аналогични, но получени от изследвания на възрастни пациенти.

### 1.9. Честота на локализация на засегнатите лимфни възли при децата с диагноза Туберкулозен бронхаденит

Двустранно засягане на лимфните възли се установява при около 2/3 - 60% (n=9) от децата с Туберкулозен бронхаденит (фиг. 10).

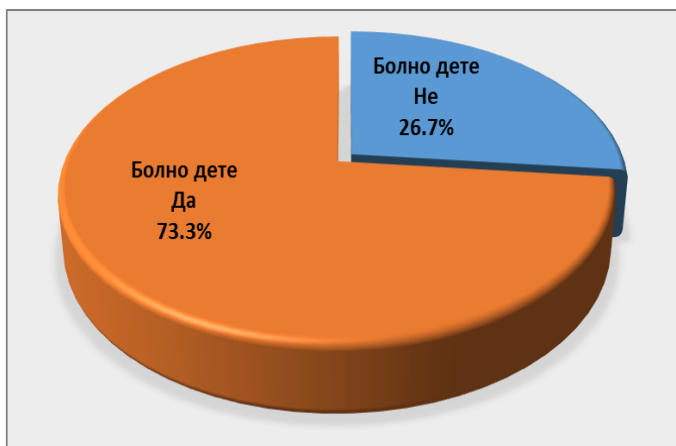


Фиг.10. Честота на локализация на засегнатите лимфни възли

Установява се, че липсва характерно засягане на групи лимфни възли вляво или вдясно, а по-характерно е двустранното засягане на лимфно-жлезния апарат на децата.

### 1.10. Разпределение на изследваните деца по наличие на туберкулозно заболяване

От изследваните 30 деца при 73,3% (n=22) се установяват рентгеноморфологични данни за наличие на различни форми на туберкулозно заболяване. От останалите 8 деца - при 6 от тях се поставя диагноза ЛТБИ, а при 2 не се установява наличие на туберкулозна инфекция или болест (фиг. 11).



*Фиг. 11. Разпределение на изследваните деца по наличие на туберкулозно заболяване*

При 73,3% от изследваните деца, използвайки всички диагностични методи, се поставя диагнозата туберкулоза, а при 20% - ЛТБИ - състояние на инфектираност без клинично-лабораторни данни за наличие на болест. Болните деца са подложени на противотуберкулозно лечение, а инфектираните - на профилактика. Представената извадка е неголяма, но все пак се отчита висок процент на диагностициране на туберкулоза в различните ѝ клинични форми.

При анализиране на зависимостта между възрастовата група, към която принадлежи детето и наличието на туберкулозна болест не се установява статистическа значимост, анализирайки връзката между двата белега ( $p=0,353$ ), (табл. 7).

Табл. 7. Възрастова група/ наличие на туберкулозно заболяване (Fisher's Exact Test)

Болно дете		Възрастова група			Общо	P
		7-11 г.	12-14 г.	15-18 г.		
Не	N	5	2	1	8	0,353
	%	41,7%	22,2%	11,1%	26,7%	
Да	N	7	7	8	22	
	%	58,3%	77,8%	88,9%	73,3%	
Общо	N	12	9	9	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Почти по равен брой деца (съотв. 7, 7 и 8) от трите изследвани възрастови групи са с доказано туберкулозно заболяване. Все пак не е за пренебрегване факта, че почти 90% от децата в най-високата възрастова група (15-18 г.) са болни.

## 2. Фибробронхоскопия и взимане на БАЛ

Работейки по предложения в методологията алгоритъм, при осъществяване на бронхоскопията не настъпиха никакви усложнения и всички деца, включени в проучването понесоха добре изследването. Според редица автори, независимо от инвазивния му характер, провеждането на бронхоскопско изследване и последващото изследване на взетия БАЛ са ключови при диагностиката на редица респираторни заболявания в детска възраст.

В настоящото проучване, благодарение на изследването, се диагностицираха освен 22-те деца с туберкулоза (разбира се, в съчетание и с останалите диагностични методи) и едно дете с Белодробна ехинококоза. Двукратното провеждане на бронхоскопско изследване бе и от съществено

значение за поставяне на диагнозата Ендобронхиална туберкулоза при едно от изследваните деца.

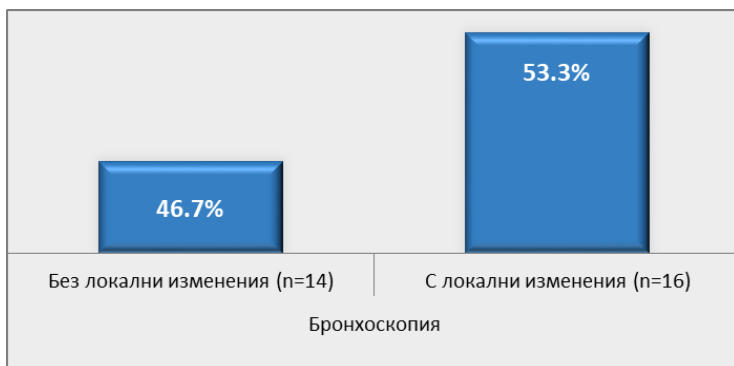
Предложения в методологията алгоритъм за провеждане на бронхоскопско изследване в детска възраст е приложим и безопасен.

В хода на проведената бронхоскопия се потърсиха и локални изменения, които биха могли да имат определена диагностична стойност.

При 53,3% (n=16) от децата в хода на проведеното бронхоскопско изследване се установяват локални изменения - хиперемия на бронхиалната лигавица, наличие на секрет, ектазирани бронхиални съдове при някои от децата (фиг. 12).

При детето с ендобронхиална туберкулоза и сегментна ателектаза се установиха съществени ендоскопски промени - вдясно обтуриран В5, без видим ход дистално, а само добре оформен еперон. При повторната бронхоскопия локално се визуализира казеозоподобна материя - решаващо по отношение на диагностичното уточняване.

При едно от децата с ЛТБИ в хода на бронхоскопията се визуализира стена на ехинококова киста, впоследствие диагнозата бе потвърдена серологично и хирургично.

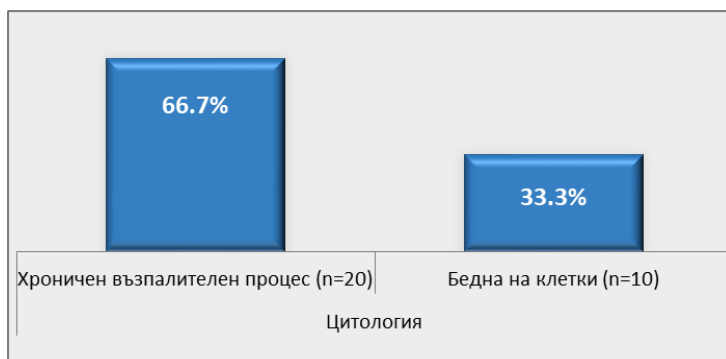


Фиг. 12. Разпределение на изследваните деца по наличие на локални изменения в дихателните пътища

### 3. Микробиологично и цитологично изследване на БАЛ и анализирани на получените резултати

Взетият БАЛ бе изследван и микробиологично – на микроскопия и на посевка. При всичките 30 деца резултатите бяха отрицателни, т.е. не се установи наличие на *M. tuberculosis*. Те потвърждават резултатите от културелното изследване на хрчка (стомашно-промивни води) при пациентите. Изследваната група пациенти е малка, с пет различни форми на туберкулозно заболяване, но бацилоотделяне (дори от изследван материал от долните дихателни пътища) не се установи. В следващи проучвания е възможно като микробиологичен диагностичен метод да бъде добавен и PCR in real time (Gene Xpert MBT/RIF) и да се направи сравнителен анализ на получените резултати.

При значителен процент от децата 66,7% (n=20) при цитологично изследване на БАЛ се установява хроничен възпалителен процес, представен с групи от макрофаги, лимфоцити и неутрофили в повлекла от слуз. При 33,3% (n=10) изготвените препарати са бедни на клетки (фиг. 13).



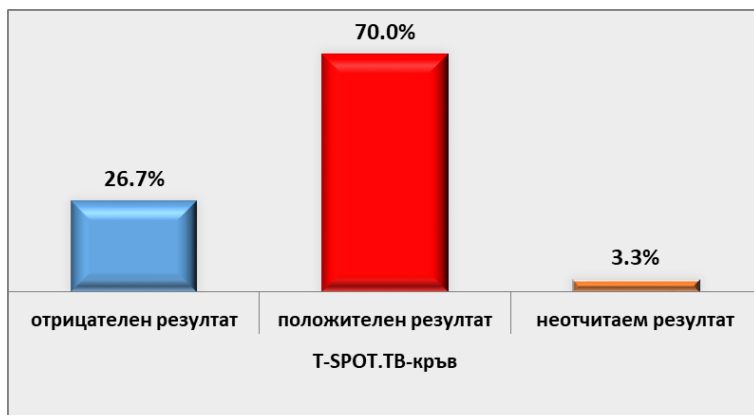
Фиг.13. Разпределение на изследваните деца по резултат от цитология на БАЛ

Получените цитологични резултати са неспецифични и потвърждават наличието на хроничен възпалителен процес. Само при едно дете (с Ендобронхиална туберкулоза), при което в хода на бронхоскопията се взе и локална щипкова биопсия, от цито-хистологичното изследване се установи наличие на специфичен гранулом с централно разположена казеозна некроза и перифокален вал от клетки на възпалението. В нашето проучване се установява, че цитологичното изследване на БАЛ в детска възраст не би могло да постави специфична диагноза, а има само насочващ характер. Цитологичното изследване на БАЛ в детска възраст е специфично за определени нозологични единици, но не и за туберкулозното заболяване.

#### **4. Имунологично изследване с гама-интерферонов тест (T-SPOT.TB) в кръв и в БАЛ**

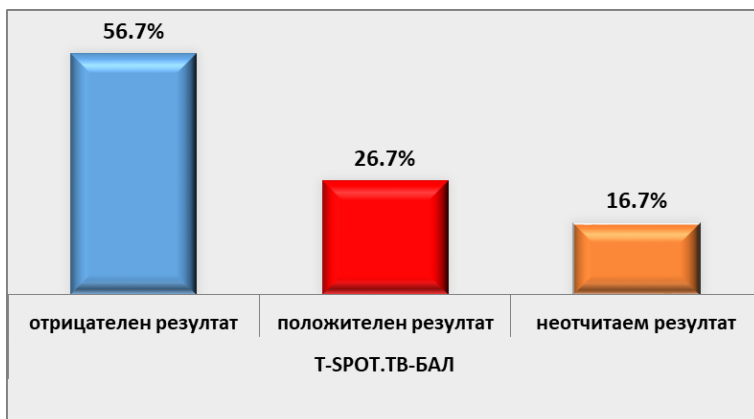
##### **4.1. Разпределение на изследваните деца по резултат от приложен T-SPOT.TB в кръв и в БАЛ**

При приложение на имунологичния тест в кръв се установява, че при значителен процент - 70% (n=21) от изследваните деца тестът се интерпретира като положителен (наличие на 6 или повече спота в панел А и/или в панел В). Тестът е отрицателен при 26,7% (n=8) от децата и неотчитаем при 3,3% (n=1). Неотчитаем е резултатът при едно дете - така се интерпретира тестът, когато при отчитането на резултатите има над 10 спота в Нулевата контрола и по-малко от 20 спота в Положителната контрола (фиг.14).



*Фиг. 14. Разпределение на изследваните деца по резултат от кръвен T-SPOT.TB*

Резултатите от имунологичния тест в БАЛ обаче съществено се различават от кръвните такива. Само при 26,7% (n=8) от децата се установява положителен резултат, при 56,7% (n=17) - отчетения резултат е отрицателен и при 16,7% (n=5) от изследваните пациенти резултатът не може да бъде отчетен нито като положителен, нито като отрицателен (фиг. 15).



*Фиг. 15. Разпределение на изследваните деца по резултат от лаважен T-SPOT.TB*

В хода на настоящото изследване потърсихме една от най-важните зависимости - сравнение на резултатите, получени от приложение на имунологичния тест T-SPOT.TB паралелно в кръв и в БАЛ.

Установява се, че всички положителни тестове от БАЛ (n=8) са положителни и от кръв, т.е. лаважният тест потвърждава кръвния такъв. По отношение на отрицателните резултати от БАЛ - при 29,4% от тях е отрицателен и кръвния T-SPOT.TB - сходство в двата резултата, но при 64,7% кръвният тест е положителен - има разминаване в получените резултати от кръв и БАЛ. Само 8 от положителните кръвни тестове (n=21) са положителни и от БАЛ (p=0,070), (табл. 8).

Табл. 8. Разпределение на изследваните деца по имунологични резултати - лаважен/ кръвен тест (Fisher's Exact Test)

T-SPOT.TB - кръв		T-SPOT.TB - БАЛ			Общо	P
		Отрицателен резултат	Положителен резултат	Неотчитаем резултат		
Отрицателен резултат	N	5	0	3	8	0,070
	%	29,4%	0,0%	60,0%	26,7%	
Положителен резултат	N	11	8	2	21	
	%	64,7%	100,0%	40,0%	70,0%	
Неотчитаем резултат	N	1	0	0	1	
	%	5,9%	0,0%	0,0%	3,3%	
Общо	N	17	8	5	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

При отстраняване на неотчитаемите резултати от статистическата обработка взаимовръзката между двата изследвани показателя - T-SPOT.TB-БАЛ и T-SPOT.TB-кръв не търпи съществена промяна (табл. 9).

Табл. 9. Разпределение на изследваните деца по имунологични резултати - лаважен/ кръвен тест (Fisher's Exact Test) - неотчитаемите резултати са отстранени

Т-SPOT.TB - кръв		Т-SPOT.TB - БАЛ		Общо	P
		Отрицателен резултат	Положителен резултат		
Отрицателен резултат	N	5	0	5	0,130
	%	31,3%	0,0%	20,8%	
Положителен резултат	N	11	8	19	
	%	68,8%	100,0%	79,2%	
Общо	N	16	8	24	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

При задълбочен анализ се установява, че от всички болни деца, само при две от тях кръвният Т-SPOT.TB не е с положителен резултат (при едното дете резултатът е отрицателен, а при другото - неотчитаем). Това показва, че кръвният имунологичен тест е с висока диагностична стойност по отношение на туберкулозното заболяване в детска възраст.

В групата на болните деца (общ брой 22), обаче при 12 деца (повече от половината) лаважният Т-SPOT.TB е с отрицателен резултат. Същите тези деца имат положителен кръвен имунологичен тест. Съществуващото противоречие от резултатите, публикувани с възрастни пациенти, болни от туберкулоза, при които в голям процент лаважният имунологичен тест е с положителен резултат, се обяснява с:

- различните форми на туберкулоза, от които боледуват възрастните пациенти (предимно деструктивни с бронхогенна дисеминация).
- имунологичните особености на детския организъм по отношение на Т-клетъчния имунитет - неефективна локална концентрация на Т-

клетките, отделящи гама-интерферон и съответно наличие на отрицателни имунологични резултати от лаважна течност.

#### **4.2. Сравнение на получените резултати от T-SPOT.TB в кръв и в БАЛ с аналогични резултати на възрастни пациенти**

Резултатите от настоящото проучване **не кореспондират** с тези, получени при изследванията на възрастни пациенти с активна туберкулоза, при които положителните гама-интерферон тестове, направени в БАЛ преобладават.

Jafari и сътрудници смятат че, чувствителността на микроскопията на храчка или БАЛ като метод за откриване на туберкулозни микобактерии е променлива при възрастни пациенти с белодробна туберкулоза и варира от 50 до 80% за три последователни проби. При пациенти с активна туберкулоза, които са отрицателни на микроскопия на храчка, чувствителността на МТВ-специфична ДНК амплификация на храчка или БАЛ варира от 48 до 80%. По този начин значителна част от пациентите с белодробна туберкулоза остават недиагностицирани с настоящите лабораторни техники, докато не се получат резултатите от културелното изследване. При едно от своите проучвания авторите правят извод, че при пациенти с активна туберкулоза с отрицателна микроскопия на храчка (25 от 42 бр.; 59,5%) се установява, че *M. tuberculosis*-специфична БАЛ течност (IGRA) е 92% чувствителна и 87% специфична (LR + = 7) за диагностициране на туберкулоза.

Това несъответствие между получените в настоящото проучване резултати и публикуваните при възрастни пациенти се обяснява с факта, че голям процент от изследваните деца боледуват от т.н. затворена форма на туберкулоза (Туберкулозен бронхаденит), т.е. тяхното заболяване е локализирано в лимфните възли и поради това няма наличие на туберкулозни бактерии в бронхите. За разлика от тях, изследваните възрастни пациенти

боледуват най-често от Инфилтративно-пневмонична форма на заболяването, която нерядко търпи и бронхогенна дисеминация.

Втора, но изключително съществена разлика между двете изследвани групи - деца/ възрастни е имунологичната особеност в миграцията, локалната концентрация и интерфероновата продукция от сенсibiliзираните Т-лимфоцити - процеси, зависими от имунологичната реактивност на отделния индивид и различаващи се съществено в различните му възрастови периоди.

**4.3. Зависимост между получените имунологични резултати и определени характеристики (възраст, диагноза, контакт с туберкулозно болен, проба на Mantoux, VCG белег, цитологичен резултат, локални изменения) на изследваните деца**

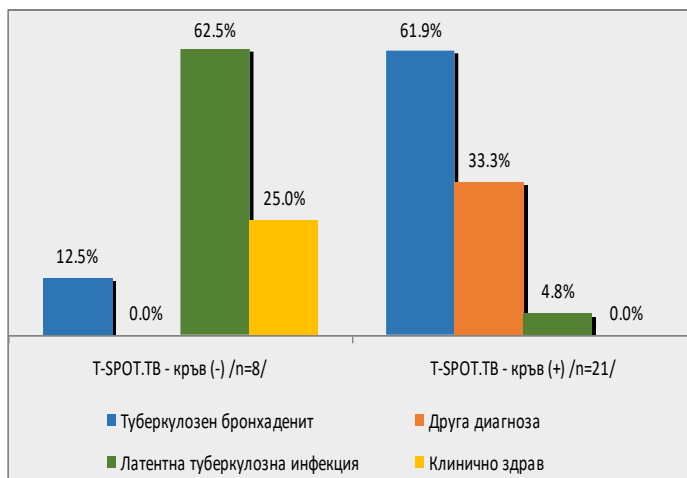
Най-голям процент отрицателни резултати от кръвния Т-SPOT.TB - 62,5% се отчитат при децата във възрастова група 7-11 год. Не се открива друга съществена статистическа значимост при анализиране на резултатите от имунологичния кръвен тест спрямо възрастните групи, в които попадат изследваните деца (табл. 10).

Табл. 10. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от кръвен имунологичен тест и възрастова принадлежност (Fisher's Exact Test)

Възр. група		T-SPOT.TB - кръв			Общо	P
		Отрицателен резултат	Положителен резултат	Неотчитаем резултат		
7-11 г.	N	5	7	0	12	0,342
	%	62,5%	33,3%	0,0%	40,0%	
12-14 г.	N	2	7	0	9	
	%	25,0%	33,3%	0,0%	30,0%	
15-18 г.	N	1	7	1	9	
	%	12,5%	33,3%	100,0%	30,0%	
Общо	N	8	21	1	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

По отношение на зависимостта между резултата от кръвния T-SPOT.TB и диагнозата се установява, че при 61,9% (n=13) от децата с положителен резултат се поставя диагноза Туберкулозен бронхаденит. Този резултат съвпада с получените и публикувани резултати при изследването на кръвен имунологичен тест при деца с първични форми на туберкулозно заболяване.

Висок процент от децата (62,5%), диагностицирани само като инфектирани, т.е. с ЛТБИ имат отрицателен кръвен T-SPOT.TB, но при тях е отчетен хиперергичен TST, въз основа на което е поставена и диагнозата ( $p < 0,001$ ), (фиг. 16).



*Фиг.16. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от кръвен имунологичен тест и поставена диагноза (неотчитаемите имунологични резултати са отстранени)*

При 66,7% (n=14) от децата с положителни кръвни тестове се установява наличен контакт с туберкулозно болен в семейството, а при 62,5% от децата с отрицателен кръвен T-SPOT.TB липсват данни за контакт с болен от туберкулоза, като не се установява статистическа връзка между резултата от кръвния тест и наличието на контакт с туберкулозно болен ( $p=0,238$ ), (табл. 11).

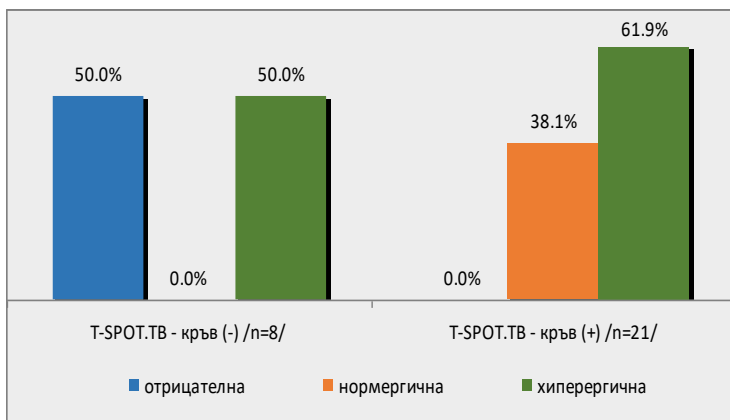
Получените резултати са в подкрепа на публикуваните, при който се твърди, че децата се инфектират с туберкулозни микобактерии предимно в семейната си среда, в близкото си обкръжение.

Табл. 11. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от кръвен имунологичен тест и наличен контакт с ТБ болен

Контакт		T-SPOT.TB - кръв			Общо	P
		Отрицателен резултат	Положителен резултат	Неотчитаем резултат		
Липсва сигурен	N	5	5	0	10	0,238
	%	62,5%	23,8%	0,0%	33,3%	
Наличен (извън семейството)	N	0	2	0	2	
	%	0,0%	9,5%	0,0%	6,7%	
Наличен (в семейството)	N	3	14	1	18	
	%	37,5%	66,7%	100,0%	60,0%	
Общо	N	8	21	1	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Установява се статистическа значимост между получените резултати от два имунологични теста - кръвен T-SPOT.TB и кожен туберкулинов тест на Mantoux. При 61,9% от положителните кръвни тестове се установява хиперергичен TST, при 38,1% - нормергичен TST и липсват деца с положителен T-SPOT.TB, които да имат отрицателна туберкулинова проба на Mantoux.

Половината от децата с отрицателен кръвен тест са и с отрицателен кожен имунологичен тест, но другата половина пациенти с отрицателен кръвен T-SPOT.TB са с отчетени хиперергични туберкулинови проби ( $p=0,003$ ), (фиг. 17).



*Фиг. 17. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от кръвен имунологичен тест и резултат от туберкулинова проба на Mantoux (неотчитаемите имунологични резултати са отстранени)*

Получените резултати отново повдигат въпроса за диагностичната стойност на TST и на кръвния гама-интерфероновия тест, използвани заедно и поотделно, за субективното отчитане на TST и недостатъците му като цяло.

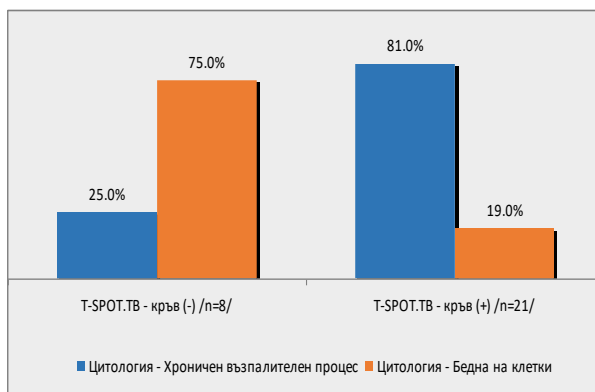
При висок процент (71,4%) от децата с положителен кръвен имунологичен тест не се установява наличие на BCG белег, но при децата с отрицателни резултати от кръвния T-SPOT.TB - половината от тях имат, а останалата половина нямат BCG белег - не се установява статистическа значимост между двата изследвани признака ( $p=0,594$ ), (табл. 12).

Табл. 12. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от кръвен имунологичен тест и наличие на BCG белег

BCG белег		T-SPOT.TB - кръв			Общо	P
		Отрицателен резултат	Положителен резултат	Неотчитаем резултат		
Не	N	4	15	1	20	0,594
	%	50,0%	71,4%	100,0%	66,7%	
Да	N	4	6	0	10	
	%	50,0%	28,6%	0,0%	33,3%	
Общо	N	8	21	1	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Установява се обаче статистическа връзка между получените резултати от кръвния имунологичен тест и тези от цитологичното изследване на взетия БАЛ. При 81% от децата с положителен кръвен T-SPOT.TB на цитологичното изследване се установява хроничен възпалителен процес с обилие от макрофаги, неутрофили, лимфоцити, а при 75% от децата с отрицателен кръвен имунологичен тест се установява биден на клетки цитологичен препарат ( $p=0,007$ ), (фиг. 18).

Това може да бъде обяснено с активиране основно на неспецифичната имунологична защита, както е при всеки един възпалителен процес и с факта, че перифокалното възпаление при туберкулозното заболяване е специфично по етиология, но неспецифично по проявление.



*Фиг.18. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от кръвен имунологичен тест и резултат от цитологично изследване (неотчитаемите имунологични резултати са отстранени)*

Не се открива статистическа връзка между получените резултати от кръвния имунологичен тест и наличието на локални изменения, установени с проведената бронхоскопия ( $p=1,000$ ), (табл. 13).

*Табл. 13. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от кръвен имунологичен тест и налични локални изменения в дихателните пътища*

Бронхоскопия		T-SPOT.TB – кръв			Общо	P
		Отрицателен резултат	Положителен резултат	Неотчитаем резултат		
Без локални изменения	N	4	10	0	14	1,000
	%	50,0%	47,6%	0,0%	46,7%	
С локални изменения	N	4	11	1	16	
	%	50,0%	52,4%	100,0%	53,3%	
Общо	N	8	21	1	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

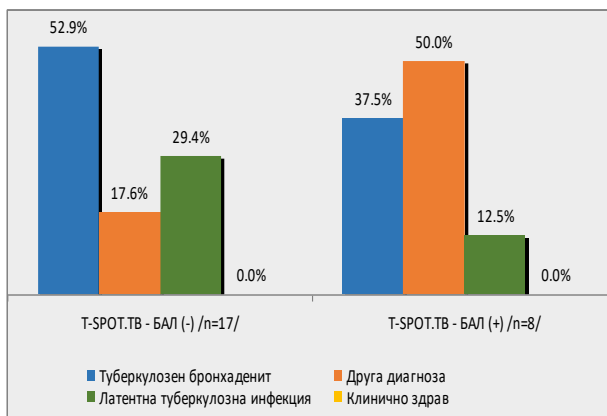
От анализа на показателите лаважен T-SPOT.TB и възрастова група, в която попада детето се установи, че липсва статистическа връзка между тях ( $p=0,734$ ), (табл. 14).

Табл. 14. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от лаважен имунологичен тест и възрастова принадлежност (Fisher's Exact Test)

Възр. група		T-SPOT.TB - БАЛ			Общо	P
		Отрицателен резултат	Положителен резултат	Неотчитаем резултат		
7-11 г.	N	8	3	1	12	0,734
	%	47,1%	37,5%	20,0%	40,0%	
12-14 г.	N	4	2	3	9	
	%	23,5%	25,0%	60,0%	30,0%	
15-18 г.	N	5	3	1	9	
	%	29,4%	37,5%	20,0%	30,0%	
Общо	N	17	8	5	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

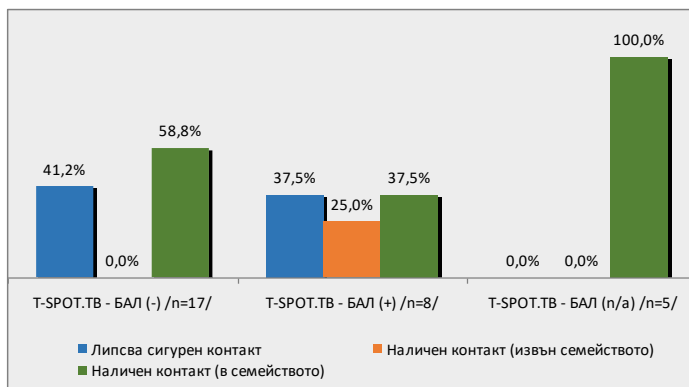
Най-висок процент от децата с положителен лаважен тест (50%) са с друга диагноза (Инфилтративно-пневмонична форма на туберкулоза, Туберкулозен плеврит), а не с Туберкулозен бронхаденит. Тези деца са с вторични форми на заболяването, по подобие на изследваните в други проучвания възрастни пациенти и поради тази причина, резултатите съвпадат с публикуваните за възрастната популация. При 37,5% от децата с положителен лаважен тест е поставена диагнозата Туберкулозен бронхаденит, а при 12,5% - ЛТБИ. Около половината от децата с Туберкулоза на вътрегръдните лимфни възли са с отрицателен лаважен T-SPOT.TB тест, т.е. локалната имунологична диагностика е с ниска диагностична стойност

при затворените фирми на туберкулозно заболяване, каквато е Туберкулозният бронхаденит ( $p=0,053$ ), (фиг. 19).



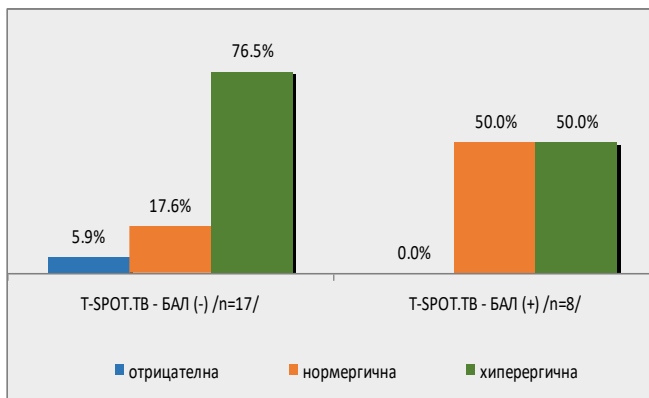
Фиг. 19. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от лаважен имунологичен тест и поставена диагноза (неотчитаемите имунологични резултати са отстранени)

Не се установява статистическа връзка между резултата от лаважния имунологичен тест и наличието на контакт с туберкулозно болен ( $p=0,064$ ), (фиг. 20).



Фиг. 20. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от лаважен имунологичен тест и наличието на контакт с ТБ болен

Половината от децата с положителен лаважен тест са с хиперергична туберкулинова проба на Mantoux, а останалата половина - с нормергична. При висок процент (76,5%) от децата с отрицателен лаважен T-SPOT.TB обаче, се установява хиперергична туберкулинова проба на Mantoux ( $p=0,017$ ), (Фиг. 21).



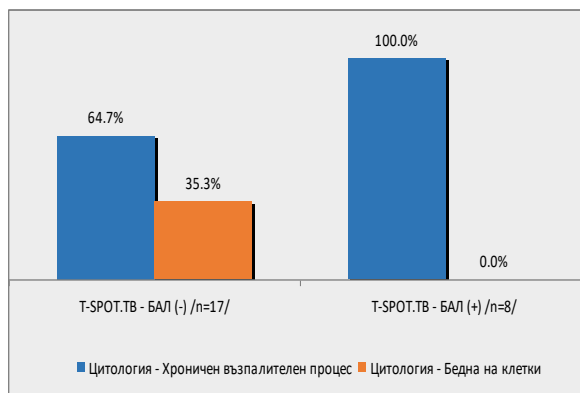
*Фиг. 21. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от лаважен имунологичен тест и резултат от туберкулинова проба на Mantoux (неотчитаемите имунологични резултати са отстранени)*

Висок процент (75%) от децата с положителен лаважен имунологичен тест нямат BCG белег, без да се установява статистическа връзка между двата показателя ( $p=0,152$ ), (табл. 15).

Табл. 15. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от лаважен имунологичен тест и наличие на BCG белег

BCG белег		T-SPOT.TB – БАЛ			Общо	P
		Отрицателен резултат	Положителен резултат	Неотчитаем резултат		
Не	N	9	6	5	20	0,152
	%	52,9%	75,0%	100,0%	66,7%	
Да	N	8	2	0	10	
	%	47,1%	25,0%	0,0%	33,3%	
Общо	N	17	8	5	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

При всички деца с положителен лаважен тест на цитологичното изследване на взетия БАЛ се установява хроничен възпалителен процес ( $p=0,008$ ), (фиг. 22).



Фиг. 22. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от лаважен имунологичен тест и резултат от цитологично изследване (неотчитаемите имунологични резултати са отстранени)

Независимо, че 62,5% от децата с положителен лаважен T-SPOT.TB имат и установени бронхоскопски локални изменения, не се установява статистическа връзка между резултата от лаважния имунологичен тест и наличието на локални изменения ( $p=0,883$ ), (табл. 16).

Табл. 16. Разпределение на изследваните деца спрямо резултат от лаважен имунологичен тест и налични локални изменения в дихателните пътища

Бронхоскопия		T-SPOT.TB - БАЛ			Общо	P
		Отрицателен резултат	Положителен резултат	Неотчитаем резултат		
Без локални изменения	N	9	3	2	14	0,883
	%	52,9%	37,5%	40,0%	46,7%	
С локални изменения	N	8	5	3	16	
	%	47,1%	62,5%	60,0%	53,3%	
Общо	N	17	8	5	30	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

#### 4.4. Определяне на показателите чувствителност и специфичност на T-SPOT.TB теста в БАЛ и сравнение с тези на кръвния T-SPOT.TB тест

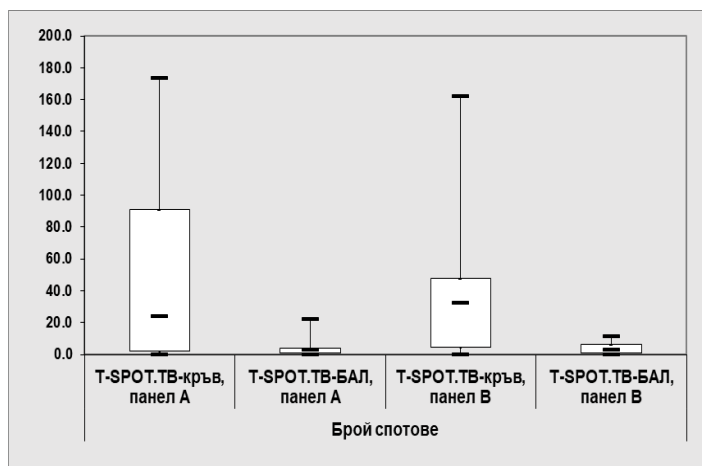
Прави впечатление съществената количествена разлика в средния брой спотове в двата панела (А и В) в двата приложени T-SPOT.TB теста - в кръв и в БАЛ. Средната стойност на брой спотове в панел А в кръвен имунологичен тест е повече от 10 пъти по-висока (48,16) от същата стойност в лаважния имунологичен тест (3,72). Стойностите на броя спотове в панел В в кръвен и в лаважен тест са в почти същото съотношение (35,88:3,80), (табл. 17). Използвайки теста на Уилкоксон се установява, че съществува статистически достоверна разлика в средния брой спотове в кръвния и лаважния тест в полза на кръвния ( $p<0,001$ ).

Това повдига няколко въпроса основно относно качествата на методиката за изработване и отчитане на гама-интерферонов тест в лаважна течност и разбира се дискутираните вече количествени разлики между Т-лимфоцитите в БАЛ при деца и при възрастни пациенти.

Общият брой спотове в панел А (както в кръв, така и в БАЛ) е по-голям в сравнение с броя спотове в панел В, което е показател за по-голяма давност на туберкулозната инфекция сред изследваните деца (фиг. 23).

Табл. 17. Среден брой спотове в кръвен и в лаважен тест по панели (Wilcoxon Signed Ranks Test)

Брой спотове	N	Mean	Median	SD	Min	Max	P
<b>T-SPOT.TB - кръв, панел А</b>	25	48.16	24.00	50.65	0.00	173.00	<0,001
<b>T-SPOT.TB - БАЛ, панел А</b>	25	3.72	3.00	4.94	0.00	22.00	
<b>T-SPOT.TB - кръв, панел В</b>	25	35.88	32.00	38.53	0.00	162.00	<0,001
<b>T-SPOT.TB - БАЛ, панел В</b>	25	3.80	3.00	3.39	0.00	11.00	



Фиг. 23. Среден брой спотове в кръвен и в лаважен тест (Box-plot изображение)

### Диагностични характеристики на T-SPOT.TB теста в БАЛ (спрямо статуса на детето /болно-здраво/)

При 12 от болните от туберкулоза деца се отчита отрицателен резултат от лаважния имунологичен тест, а при 7 от болните деца тестът е положителен. При 5 от здравите деца T-SPOT.TB тестът в лаваж е с отрицателен резултат, а при едно дете (с ЛТБИ) е положителен (табл. 18).

Табл. 18. Зависимост между наличието на болест и резултата от T-SPOT.TB в БАЛ

T-SPOT.TB - БАЛ	Болно дете	
	Не	Да
Отрицателен резултат	5	12
Положителен резултат	1	7

Спрямо получените резултати от табл. 18 се определят показателите чувствителност - 36,84% и специфичност - 83,33% за имунологичния тест в БАЛ (табл. 19).

Табл. 19. Диагностични характеристики на имунологичния тест в БАЛ спрямо здравния статус на детето

Показател	Value	95% CI
Sensitivity	36,84%	16,29% to 61,64%
Specificity	83,33%	35,88% to 99,58%
Positive Predictive Value	87,50%	47,35% to 99,68%
Negative Predictive Value	29,41%	10,31% to 55,96%
Disease prevalence	76,00%	54,87% to 90,64%

Спрямо анализиранията зависимост между здравния статус на детето и получените от лаважния имунологичен тест резултати, показателите чувствителност и специфичност се определят както следва - 36,84% и 83,33% за имунологичния тест в БАЛ.

За сравнение, тези показатели на T-SPOT.TB в кръв са със значително по-високи стойности - съответно 95,6% и 97,1%. Този резултат за пореден път подкрепя по-високата диагностична стойност на имунологичния тест, приложен в кръв в детска възраст.

## **5. Оценка на необходимостта от провеждане на локална имунологична диагностика на туберкулозното заболяване в детска възраст**

Предвид особеностите в протичането на туберкулозата в детска възраст и особеностите на специфичния клетъчен имунитет при децата, гама-интерфероновият тест (T-SPOT.TB) проведен в кръв се оказва с по-висока диагностична стойност от същия тест, проведен в БАЛ.

Провеждането на бронхоскопия и взимането на БАЛ за изследване могат да подпомогнат диагностиката на заболяването, особено при определени форми на туберкулоза (напр. Ендобронхиална туберкулоза), като методът е с висока степен на приложимост и безопасност.

Локалната имунологична диагностика в детска възраст не надвишава по чувствителност и специфичност кръвния имунологичен T-SPOT.TB тест. Провеждането на T-SPOT.TB теста в бронхоалвеоларна течност в детска възраст е с ограничени диагностични възможности по отношение на туберкулозното заболяване.

## **Заклучение:**

Поставянето на диагнозата "туберкулоза" сред педиатричната популация и в днешно време продължава да бъде предизвикателство за детския пневмолог и фтизиатър. Създаването на нови диагностични методи и усъвършенстването на наличните е ангажимент както на изследователите, така и на клиничните специалисти. Потвърждаването на туберкулозното заболяване в детска възраст се осъществява чрез комплексното използване на всички диагностични критерии - анамнестични и епидемиологични данни, физикален статус, имунологични, образни и микробиологични методи на диагностика.

Провеждането на бронхоскопия и взимането на БАЛ за изследване могат да подпомогнат диагностиката на заболяването, особено при определени форми на заболяването (напр. Ендобронхиална туберкулоза), като методът е с висока степен на приложимост и безопасност.

Имунологичната диагностика на туберкулозната инфекция търпи бурно развитие през последното десетилетие, основно с използването на кръвните имунологични тестове, базирани на отделянето на гама-интерферон от Т-лимфоцитите. Те са с изключително висока чувствителност и специфичност по отношение на туберкулозната инфекция, но имат допълващ диагностичен характер по отношение на туберкулозното заболяване заедно с останалите налични критерии.

Използването на бронхоалвеоларна лаважна течност за имунологично изследване и потвърждаване на заболяването дава добри резултати при възрастни пациенти, което улеснява диагностиката и ускорява началото на лечението им.

Имунологичното изследване обаче, на БАЛ в детска възраст не дава толкова потвърждаващи резултати.

Предвид особеностите в протичането на туберкулозата в детска възраст и особеностите на специфичния клетъчен имунитет при децата, гама-интерфероновият тест (T-SPOT.TB) проведен в кръв се оказва с по-висока диагностична стойност от същия тест, проведен в БАЛ.

## VI. ИЗВОДИ

1. Клинико-епидемиологичната характеристика на описаните деца не се различава съществено от предходно направените, с изключение на повишаване на честотата на вторичните форми на заболяването, което се потвърждава от структурата на заболяемостта от туберкулоза в последните 5 години.

2. Туберкулозното заболяване в детска възраст се диагностицира успешно с утвърдените, описани и използвани критерии.

3. Бронхоскопското изследване с взимане на БАЛ по предложения алгоритъм е безопасен, приложим и допълващ диагностиката метод.

4. Микробиологичното и цитологично изследване на БАЛ има подкрепящ и допълващ диагностичен характер.

5. Имунологично изследване с гама-интерферонов тест (T-SPOT.TB) в кръв и в БАЛ е приложим диагностичен метод в детска възраст, като диагностичните възможности на кръвния тест превъзхождат тези на лаважния.

6. Резултатите от T-SPOT.TB в БАЛ в детска възраст не кореспондират със съответните резултати на възрастни пациенти.

7. Не се доказва връзка между резултатите от T-SPOT.TB в кръв и в БАЛ с проведената или не специфична имунопрофилактика (BCG ваксинация).

8. Доказа се статистически достоверна връзка между положителния кръвен имунологичен тест и най-честата форма на туберкулоза в детска възраст - Туберкулозен бронхаденит, както и такава между положителния лаважен имунологичен тест и по-тежките форми на туберкулоза сред децата.

9. Резултатите от имунологичния тест в кръв потвърждават в висока степен отчетената туберкулинова чувствителност с TST в сравнение с резултатите от лаважния тест.

10. Кръвният имунологичен тест превъзхожда лаважния такъв по отношение на показателите чувствителност и специфичност.

11. Локалната имунологична диагностика на туберкулозното заболяване в детска възраст има ограничени възможности и е показана само при определени случаи.

## VII. ПРИНОСИ

1. Осъществена е съвременна клинико-епидемиологична характеристика на деца, суспектни за туберкулозно заболяване.
2. Предложен е приложим и безопасен алгоритъм за провеждане на бронхоскопско изследване в детска възраст.
3. За първи път в Европа е проведено имунологично изследване на БАЛ с гама-интерферонов тест в детска възраст и е осъществен анализ на получените резултати.
4. Определена е зависимостта между имунологичните резултати и останалите диагностични критерии в детска възраст.
5. Изследвани са и са сравнени диагностичните възможности на кръвен и лаважен имунологичен тест в детска възраст.

## VIII. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

### Публикации:

1. **Габровска, Наталия.** Сравнителна стойност на T-SPOT.TB в периферна кръв и бронхоалвеоларен лаваж при деца с различни форми на туберкулозно заболяване. *Български медицински журнал*, 2017;3: 7-13 стр.
2. Велizarова, Св., Спасова, А., **Габровска, Н.** IGRA - тестове - съвременна имунологична диагноза на туберкулозното заболяване в детска възраст. *GP news*, 2017;2: 27-31 стр.
3. Velizarova Sv, **Natalia G**, Spasova A et al. Management and outcome of severe childhood tuberculosis in the paediatric intensive care setting: can we identify best practice? *Jornal Brasileiro de Pneumologia*; April 2019; 45(2). DOI: 10.1590/1806-3713/e20190043 (IF 1.532)

### Участия в научни форуми:

1. **Gabrovska N**, Velizarova Sv, Kostadinov D et al. Comparison of the diagnostic value of immunological test, applied to two types of biological fluids - venous blood and bronchoalveolar lavage in children with tuberculosis. *European Respiratory Journal* 2018 52: PA4761
2. Velizarova Sv, **Gabrovska N**, Paskova M. Children with TB treated in the one clinic for childhood TB in Sofia – Bulgaria for the period 2013-2017. *European Respiratory Journal* 2018 52: PA2732
3. **Габровска, Н.**, Велizarова, Св., Спасова, А. Сравнително проучване върху диагностичната стойност на съвременен гама-интерферонов тест, приложен в кръв и бронхоалвеоларен лаваж при деца, суспексни за туберкулоза. XX-та национална конференция за педиатри и ОПЛ, Слънчев бряг 2019 г. постер П-ра награда

