

**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ-СКОПЈЕ**



**УЛОГА НА QUANTIFERON TB GOLD ТЕСТОТ ВО ДИЈАГНОЗАТА НА АКТИВНА
ТУБЕРКУЛОЗА И ЛАТЕНТНА ТУБЕРКУЛОЗНА ИНФЕКЦИЈА ВО ДЕТСКАТА
ВОЗРАСТ**

Докторска дисертација

Катерина Бошковска

Скопје 2019 година

УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ-СКОПЈЕ



**УЛОГА НА QUANTIFERON TB GOLD ТЕСТОТ ВО ДИЈАГНОЗАТА НА АКТИВНА
ТУБЕРКУЛОЗА И ЛАТЕНТНА ТУБЕРКУЛОЗНА ИНФЕКЦИЈА ВО ДЕТСКАТА
ВОЗРАСТ**

Докторска дисертација

Катерина Бошковска

Ментор: проф. д-р Стојка Нацева Фуштиќ

Скопје, 2019 година

БЛАГОДАРНОСТ

Сакам да им изразам голема благодарност на сите што ми помогнаа во изработката на оваа докторска дисертација.

Најпрво, голема благодарност до проф. д-р Стојка Нацева Фуштиќ, мојата менторка, која ме поттикнуваше од самиот почеток и со своите несебични совети ме едуцираше и ми помагаше во изработката. Огромна благодарност до прим. д-р Мирјана Дилберовска и прим. д-р Драган Дацевски, моите драги колеги, кои несебично ме едуцираа и ме насочуваа во секојдневната работа и постојано ме мотивираат и ме поддржуваат. Благодарност и до колегите од Институтот за белодробни заболувања и ТБЦ, Скопје, доц. д-р Биљана Илиеска, проф. д-р Лилјана Симоновска, д-р Цвета Враготерова, Андријана и Маре кои ми ја овозможија изработката на анализите во микробиолошката лабораторија на Институтот. Многу ѝ благодарам на мојата драга проф. д-р Марија Манева, која веруваше во мене и ме поттикну да ги започнам докторските студии. Им се заблагодарувам на сите мои колеги и пријатели што ме поддржуваа и ми помагаа, и секако, голема благодарност до моето семејство, кое секојдневно ме бодреше, ме поттикнуваше и имаше огромно разбирање за мојата работа.

*Посветено на мојата ќерка Надја и на сите деца бидејќи тие се
нашата иднина!*

СОДРЖИНА:

1. ВОВЕД	5
1.1 Историски податоци.....	5
1.2 Епидемиолошки карактеристики.....	7
1.3 Предизвикувач на ТБЦ.....	11
1.4 Патолошки механизам на туберкулозната инфекција.....	12
1.5 Туберкулозна болест	15
1.6 Латентна туберкулозна инфекција(ЛТБИ).....	23
2. МОТИВ ЗА ИСТРАЖУВАЊЕТО	28
3. ХИПОТЕЗА И ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО	29
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ	30
4.1.Испитаници.....	30
4.2.Методи.....	31
4.3.Статистичка обработка на податоците.....	34
5. РЕЗУЛТАТИ	38
5.1.Базични демографски карактеристики на испитаниците.....	38
5.2.Специфични карактеристики на болните испитаници и децата со латентна туберкулозна инфекција.....	44
5.3.Примена на Quantiferon TB gold тестот во дијагнозата на активна ТБЦ и ЛТБИ во детската возраст.....	52
5.4.Примена на TST тестот според методот на Mantoux во дијагнозата на активна ТБЦ и ЛТБИ.....	62
5.5.Споредба помеѓу TST и Quantiferon TB gold тестот	73
5.6.Споредба на вредностите на TST и на IFN- γ во зависност од контактот со болен од ТБЦ.....	80
6. ДИСКУСИЈА	82
7. ЗАКЛУЧОЦИ	95
8. ЛИТЕРАТУРА	97

ЛИСТА НА СКРАТЕНИЦИ:

AIDS – синдром на стекнат имун дефицит (eng. Acquired Immunodeficiency Syndrome)

ARB – ацидо-алкохолно резистентни бацили

AUC – Area Under the Curve

BCG – Bacillus Calmette-Guerin

CFP-10 – Culture Filtrate Protein-10

ELISA – ензимски врзан имуносорбент тест (eng. Enzyme -Linked Immunosorbent Assay)

ESAT-6 – Early Secretory Antigenic Target-6-specific T cell

HIV– Human Immunodeficiency Virus

IFN- γ – интерферон гама (eng. Interferon gamma)

IGRA – тест на отпуштање на интерферон гама (eng. Interferon Gamma Release Assay)

IL – интерлеукин

IQR – Интерквартален ранг

ЛТБИ– Латентна туберкулозна инфекција

NO – азотен оксид

PCR – полимераза верижна реакција (eng. Polymerase Chain Reaction)

PPD – прочистен протеински дериват (eng. Purified Protein Derivative)

QFT– QuantiFERON-TB Gold test

ROC – Receiver operating characteristic

СЗО – Светска здравствена организација

ТБЦ – Туберкулоза

ТБ 7.7– туберкулозен протеин 7.7

Th – помошнички Т-лимфоцити (eng. T-helper lymphocyte)

TNF- α – тумор некротичен фактор-алфа (eng. Tumor Necrosis Factor Alpha)

TST – туберкулински кожен тест (eng. Tuberculin Skin Test)

ИЗВАДОК

Вовед. Според Светската здравствена организација, туберкулозата (ТБЦ) е дефинирана како инфективна бактериска болест предизвикана од *Mycobacterium tuberculosis*. Латентната туберкулозна инфекција (ЛТБИ) е дефинирана како состојба на перзистентен имун одговор на стимулација со антигени на *M. tuberculosis*, без клинички манифестна активна туберкулоза.

Заедничко за ТБЦ и ЛТБИ е позитивниот туберкулински кожен тест (TST) и IGRA тест. *Quantiferon TB gold* тестот се базира на ослободување на IFN- γ од страна на Т-лимфоцитите стимулирани со антигени специфични за *Mycobacterium tuberculosis*.

Хипотеза на истражувањето. Наша работна хипотеза е дека *Quantiferon TB gold* тестот е поефикасен од другите дијагностички процедури достапни во Р Македонија и ќе овозможи рационално и правилно користење на хемиопрофилактиката при сомневање за ЛТБИ кај децата, а ќе помогне и при несигурна дијагноза на активна ТБ.

Цел на истражувањето. Да се докаже практичната примена на *Quantiferon TB gold* тестот во дијагнозата на активна ТБ и ЛТБИ и неговиот придонес во одлуката за медикаментозна превенција кај децата кај кои има сомневање за ЛТБИ. Да се одредат неговите вредности кај децата од различна возраст со активна ТБЦ или ЛТБИ, неговата сензитивност и специфичност, како и корелацијата со TST.

Материјал и методи. Анализирани се 100 пациенти на возраст од 1 до 15 години, упатени за иследување заради можна инфекција со *M. tuberculosis* во Институтот за белодробни заболувања кај децата – Козле, во Скопје, Р Македонија, како и контролна група од 33 здрави деца. Анализирани се: демографските карактеристики, историјата на изложеност на активна туберкулоза, присуството на белег од BCG-вакцина, радиографски наоди на белите дробови, директни препарати за ацидо-алкохолно резистентни бацили од спутум (ARB), култура по Löwenstein–Jensen, туберкулински кожен тест според методот на Mantoux и вредноста на IFN- γ со помош на *Quantiferon TB gold* тестот. Пациентите се

поделени во три групи: деца за кои има сомневање за ЛТБИ (n=64), деца со сомневање за активна ТБ (n=36) и контролна група на здрави деца (n=33).

Статистичка обработка на податоците. Резултатите беа обработени со стандардни статистички методи, ползувајќи го статистичкиот софтвер IBM SPSS Statistics® 23. Од анализираните варијабли беше креирана база на податоци која беше систематски анализирана.

Резултати. Децата со ЛТБИ и со активна ТБЦ имаа сигнификантно повисоки вредности на IFN- γ во однос на здравите контроли. Исто така, децата со активна ТБ имаа сигнификантно повисоки вредностите на IFN- γ , како и поголем дијаметар на индурација на TST во однос на оние со ЛТБИ. IFN- γ тестот за дадената гранична вредност од 0,35 IU/mL имаше 64 % сензитивност и 100 % специфичност за откривање на ЛТБИ. Во однос на активната ТБЦ добивме повисока сензитивност од 80,6 % и 100 % специфичност. Одредивме нова гранична вредност на IFN- γ од $\geq 0,252$ IU/mL за дискриминација меѓу здравите контроли и ЛТБИ со 82,4 % сензитивност и 81,8 % специфичност и вредност од $\geq 0,822$ IU/mL за дискриминација помеѓу ЛТБИ и активна ТБЦ. TST имаше ниска сензитивност за откривање на ЛТБИ (50 %) и висока сензитивност за откривање на активната ТБЦ (91,7 %). Резултатите покажаа позитивна корелација помеѓу дијаметарот на индурација на TST и нивоата на IFN- γ , со високо ниво на сигнификантност. Најголем процент на совпаѓање на позитивните резултати од двата теста имавме во групата деца со активна ТБЦ (77,8 %). Испитаниците со близок контакт имаат значително повисоки нивоа на IFN- γ и повисок дијаметар на индурација при TST во однос на оние со далечен контакт.

Заклучок. Одредувањето концентрација на IFN- γ заедно со TST има голем придонес во попрецизна дијагноза на ТБЦ и ЛТБИ во детската возраст и во одлуката за медикаментозна превенција.

Клучни зборови: деца, латентна туберкулозна инфекција, туберкулински кожен тест, Quantiferon TB gold тест

ABSTRACT

Introduction: Tuberculosis (TBC) according to the World Health Organization is defined as the infectious bacterial disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. Latent tuberculosis infection (LTBI) is defined as a state of persistent immune response to *M. tuberculosis* antigens without a clinically manifest active tuberculosis. Common to TBC and LTBI is a positive tuberculin skin test (TST) and IGRA test. Quantiferon TB gold test is based on the release of IFN- γ by T-lymphocytes stimulated with *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens.

Research hypothesis: Quantiferon TB gold test is more effective than other diagnostic procedures available in the Republic of Macedonia and will allow rational and proper use of chemoprophylaxis in suspected LTBI in children and will also help in the uncertain diagnosis of active TB.

Purpose of the research: To prove the practical application of Quantiferon TB gold test in the diagnosis of active TB and LTBI and its contribution to the decision on chemoprophylaxis in children with LTBI. To determine its values in children of different ages with active TBC or LTBI, its sensitivity and specificity, and the correlation with TST.

Material and Methods: We analyzed 100 patients examined for possible *M. tuberculosis* infection or disease at the Institute of Respiratory Diseases in Children, Kozle, Skopje, as well as a control group of 33 healthy children. The following parameters were analyzed: demographic characteristics, history of exposure to active tuberculosis, presence of BCG vaccination scar, Chest X-ray findings, direct samples of acid-alcohol-resistant bacilli of sputum, Löwenstein-Jensen culture, tuberculin skin test according to Mantoux and the value of IFN- γ according to the Quantiferon TB gold test. Patients are divided into three groups: children with suspicion of LTBI ($n = 64$), children with suspicion of active TB ($n = 36$) and a control group of healthy children ($n = 33$). Statistical data processing: the results were processed by standard statistical methods, using the statistical software IBM SPSS Statistics® 23. From the analyzed variables, a database was created, and it was systematically analyzed.

Results: Children with LTBI and active TBC had significantly higher levels of IFN- γ than healthy controls. Also, children with active TB had significantly higher values of IFN- γ , as well as a larger diameter of TST induration compared to those with LTBI. The IFN- γ test for the cutoff of 0.35 IU / mL had 64 % sensitivity and 100 % specificity for the detection of LTBI. Regarding to the active TBC, we received a higher sensitivity of 80.6 % and 100 % specificity. We established a new cut-off value of IFN- $\gamma \geq 0.252$ IU / mL for discrimination between healthy controls and LTBI with 82.4 % sensitivity and 81.8 % specificity, and a value of IFN- $\gamma \geq 0.822$ IU / mL for discrimination between LTBI and active TBC. TST had low sensitivity for detection of LTBI (50 %) and high sensitivity for detection of active TBC (91.7 %). The results showed a positive correlation between the diameter of TST induration and levels of IFN- γ , with a high level of significance. The highest percentage of the matching of the positive results of the two tests was in the group of children with active TBC (77.8 %). Children with close contact had significantly higher levels of IFN- γ and higher TST induration in relation to those with distant contact.

Conclusion: Determination of IFN- γ together with TST has a great contribution in more accurate diagnosis of TBC and LTBI in childhood and in the decision on chemoprophylaxis.

Keywords: children, latent tuberculosis infection, tuberculin skin test, Quantiferon TB gold test

ВОВЕД

Според Светската здравствена организација (СЗО) туберкулозата (ТБЦ) е дефинирана како инфективна бактериска болест предизвикана од *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) [1, 2].

1.1. ИСТОРИСКИ ПОДАТОЦИ

ТБЦ како болест е присутна кај човештвото илјадници години. Скелетни остатоци на луѓе, кои се откриени во неолитски населби во Италија, Данска и на Блискиот Исток, укажуваат дека туберкулозата како болест била позната уште пред 4000 години [1]. ТБЦ како болест била откриена и во Египет 3000 до 2400 години пред нашата ера. Во мумии во Египет, откриени се скелетни промени, вклучително и Потови деформации кои се карактеристични за туберкулозата и се јасно прикажани во египетските слики кои датираат од тоа време. Постојат пишани текстови кои ја опишуваат ТБЦ во Индија пред 3300 години и во Кина пред 2300 години. Туберкулозата како болест била добро позната и во Грција каде што била означена како фтизис. Хипократ сметал дека болеста е наследна, ги опишал клиничките карактеристики на туберкулозата и дал препораки за нејзино лекување. Аристотел, а подоцна и Гален, најголемиот римски лекар од тоа време, ставиле акцент на инфективната природа на туберкулозата [1, 2].

Европа, со растот на населението и развитокот на големите урбани центри, станала епицентар на многу туберкулозни епидемии во XVI и XVII век [1]. Европските емигранти ја пренесуваат болеста и на другите континенти во т.н. Нов Свет. Во големите урбани центри, како Бостон и Њујорк, туберкулозата била присутна, но поради преземените мерки за контрола на болеста никогаш не ги достигнала стапките на морбидитет и морталитет како во Европа [1].

Историјата на туберкулозата доживува драматичен пресврт на 24 март 1882 година, денот кога кога Robert Koch одржал предавање на Универзитетот во Берлин каде што го презентирал туберкулозниот бацил како предизвикувач на туберкулозата и ја објаснил инфективната етиологија на болеста. Во 1890 година, на Медицинската конференција одржана во Берлин, Robert Koch го презентирал туберкулинот како супстанција која ја

изолирал од туберкулозниот бацил и заклучил дека може да се користи во дијагностички цели за дијагноза на туберкулозата. Во 1907 година, Clemens von Pirquet еден од водечките педијатри во Виена, го анализираше имунолошкиот одговор по давање на разреден туберкулин интракутано. Тој ја вовел граничната вредност од 5 mm како позитивна туберкулинска реакција која одразува латентна туберкулоза, термин кој тој прв го вовел кај децата што немаат клинички манифестации на туберкулоза. Во 1908 година Charles Mantoux ги вовел иглата и шприцот за интракутано аплицирање на туберкулинот, а Florence Seibert добива пречистен протеински дериват (PPD) во форма која и денес се користи за тестирање на туберкулоза. Со воведувањето на стандардизиран PPD беше овозможено анализирање на туберкулинската реакција и продлабочување на знаењето за микобактериските инфекции. Благодарение на истражувањата на Villemin, Koch, von Pirquet и други, дојде до продлабочување на сознанијата за туберкулозата и опаѓање на бранот на болеста во Европа и Северна Америка. Стапката на морталитет почнала да опаѓа на почетокот од XX век [2].

Albert Calmette и Camille Guérin се залагаат за поактивен пристап во лекувањето на туберкулозата и работат на откривање на вакцина против туберкулоза. Тие работат на атенуирање на патогените својства на *M. bovis* за да може истиот да се употребува за вакцинирање. Првата вакцина со BCG (Bacille Calmette-Guérin) била употребена 1921 година во Париз кај дете што било родено од мајка која боледува од туберкулоза. Детето преживеало и не развило туберкулоза. Веднаш потоа, се проширува примената на оваа вакцина во Европа [2, 3].

За време на Првата светска војна, за првпат се спроведува скрининг за туберкулоза кај воените регрути со користење на радиографија на белите дробови. По завршување на војната, скринингот за туберкулоза започнува да се применува и кај цивилната популација [1, 2, 3].

Во 1948 година под раководство на УНЕСКО била започната првата кампања за контрола на туберкулозата. Оваа кампања се базирала на туберкулинско тестирање проследено со вакцинација на нереакторите. Кампањата прво започнала да се применува во Полска, а подоцна се проширила низ цела Европа [1, 2, 3].

Во 1974 година, СЗО ја презентира својата стратегија за сузбивање и контрола на туберкулозата во наредните две децении и за таа цел изработува документ кој дава насоки

како да се реализираат целите. Во овие насоки се даваат препораки за амбулантско лекување на болните од туберкулоза и вакцинација со BCG, при што се поставува како цел да се обезбеди покриеност на 70 до 90 % од лицата помеѓу 15 и 20-годишна возраст [2]. Иако протективната моќ на BCG-вакцината е ограничена, таа е широко распространета и денес се употребува бидејќи ги спречува тешките форми на ТБ во детската возраст, како што се туберкулозниот менингитис и милијарната туберкулоза [4-7]

Edward Livingston Trudeau основал истражувачка лабораторија каде што започнал да ја истражува ефикасноста на лековите против туберкулоза. Откривањето на параамино салицилна киселина (Jorgen Lehmann) и откривањето на тиосемикарбазонот (Gerhard Domagk) беа првите агенси со терапевска ефикасност против туберкулоза кои предизвикаа разочарување бидејќи имале само бактериостатско дејство. Во 1944 година, бил изолиран стрептомицинот (Albert Schatz, Elizabeth Bugie и Selman Waksman) кој покажувал бактерицидно дејство против *M. tuberculosis*. По стрептомицинот во 1952 година во употреба се воведува изонијазидот како прв лек за орална употреба, а во 1957 година во употреба е пуштен и рифамицинот. Ова доведе до нова ера во третманот на туберкулозата. Историјата за контрола на туберкулозата отвори ново поглавје каде што главната цел беше искоренување на туберкулозата [3].

1.2. ЕПИДЕМИОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ

Туберкулозата е голем здравствен проблем во светски рамки и се карактеризира со висока стапка на морбидитет и морталитет во светот [1, 2].

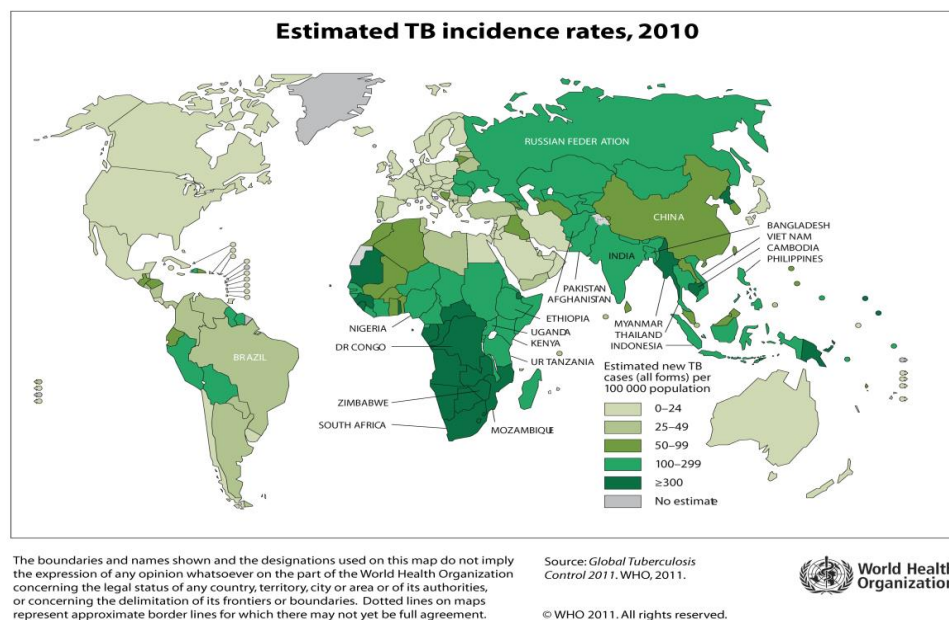
Инциденцата на туберкулозата не може да биде одредена директно. Според СЗО, се проценува дека во 2010 година во светот 8,8 милиони луѓе се разболеле од ТБЦ, а опсегот се движи од 8,5 до 9,2 милиони жители. Според овие податоци, глобалната инциденца на туберкулозата изнесувала 128 случаи на 100 000 жители. Најголем дел од овие заболени се од Азија 59 % и од Африка 26 %. Помал број на заболени се јавуваат во источниот Медитерански Регион 7 %, Европа 5 % и Северна и Јужна Америка 3 %. Најголем број на заболени случаи со туберкулоза во 2010 година се регистрирани во Индија од 2 до 2,5 милиони случаи, Кина од 0,9 до 1,2 милиони случаи, Јужна Африка од 400 000 до 590 000 случаи, Индонезија од 370 000 до 540 000 случаи и Пакистан од 330 000 до 480 000

случаи. Од вкупниот број заболени од туберкулоза во 2010 година, 38 % се регистрирани во Индија и Кина [8].

Инциденцата на туберкулоза изнесува помалу од 10 случаи на 100 000 жители во Северна Америка, од 100 до 300 случаи на 100 000 жители во Азија и над 300 случаи на 100 000 лица во Централна и Јужна Африка [1].

Според податоците од СЗО, во 2013 година, во Кенија инциденцата на ТБЦ изнесувала 268/100 000, додека во Судан инциденцата на ТБЦ изнесувала 108/100 000 [4].

Во Европскиот Регион инциденцата на туберкулоза е пониска и во 2010 година во Германија инциденцата изнесувала 4,8 случаи, во Италија 4,9 случаи, во Данска 6 случаи, Финска 6,7 случаи, во Франција 9,3 случаи на 100 000 жители. Во соседството, инциденцата на туберкулоза во 2010 година изнесувала 21 случај во Хрватска, 18 случаи во Србија и 11 случаи на 100 000 жители во Словенија [8].



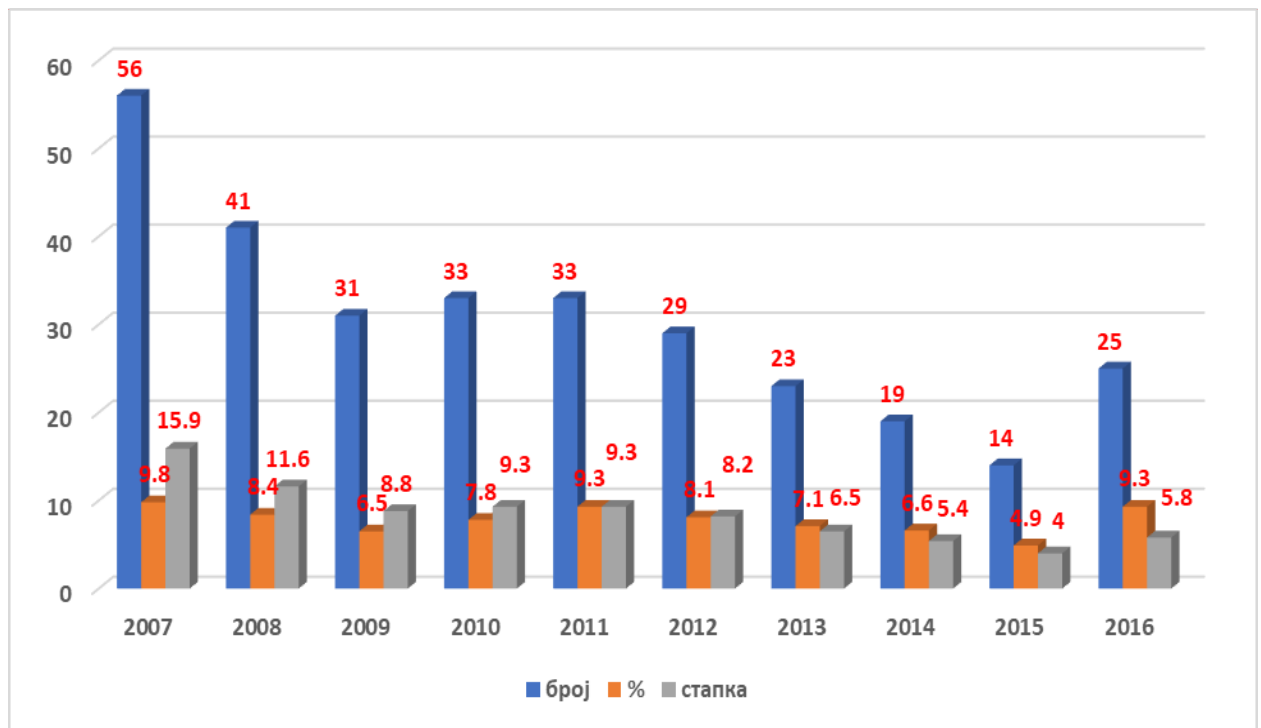
Слика1: Преземено од *Global tuberculosis control 2011*, WHO 2011[8]

Во 2010 година се проценува дека 1,1 милион луѓе починале од туберкулоза во светски рамки, додека опсегот се движел од 0,9 до 1,2 милиони случаи. Во светот стапката на морталитет изнесувала 15 случаи на 100 000 жители [8].

Глобалната инциденца на ТБ во светот бележи континуирано опаѓање за околу 1,5 % од 2000 до 2013 година. Во 2014 година 9,6 милиони луѓе заболеле, а околу 1,5 милион починале од оваа болест. Сепак, постои разлика од нотираните случаи и претпоставениот број случаи со ТБ. Во 2014 година, претпоставени 3,6 милиони случаи биле недијагностицирани или дијагностицирани, но непријавени на националните програми за туберкулоза.[9] Според најновиот извештај на СЗО, во 2017 година заболеле околу десет милиони, од кои 1 милион деца, а 1,3 милиони починале од туберкулоза. [10].

Се проценува дека 1/3 од светското население е инфицирано со *M. tuberculosis*, повеќето во облик на латентна туберкулозна инфекција (ЛТБИ), со веројатност од активирање на инфекцијата во болест кај возрасните од 5 до 10 %, а кај децата под двегодишна возраст и до 40 % [11-14].

Епидемиолошката состојба со туберкулозата во Република Македонија е прикажана преку основните епидемиолошки податоци за морбидитет и морталитет. Во Република Македонија, во 2014 година, вкупниот број на болни од туберкулоза изнесувал 389, односно преваленцијата изнесувала 18,8 на 100 000 жители, што е за 39 помалку во споредба со 2013 година кога вкупниот број на заболени изнесувал 428, односно преваленцијата изнесувала 20,7 на 100 000 жители. Од 2004 година се забележува континуиран тренд на опаѓање на преваленцијата на туберкулозата. Инциденцата на туберкулоза во Република Македонија во 2014 изнесувала 13,8 на 100 000 жители, што е помалку во споредба со 2013 година кога инциденцата изнесувала 15,6 на 100 000 жители. Бројот на умрени од туберкулоза во 2014 изнесувал 18, односно стапката на морталитет била 0,9 на 100 000 жители, што е помалку во споредба со 2013 година, кога тој број изнесувал 23, односно 1,1 на 100 000 жители [9]. Во 2017 година, во нашата земја имало вкупно 219 случаи со ТБ, а инциденцата изнесувала 13/100000 жители [10]



Слика 2: Број, процент и стапка на ТБЦ на деца до 14 години во Р Македонија (2007-2016)

Децата претставуваат 5 до 15 % од случаите со туберкулоза во целиот свет, тие почесто се подложни на инфекција и имаат потешки форми на болеста [11]. Инциденцата на детската туберкулоза претставува добар индикатор за успешноста на борбата против туберкулоза. Бидејќи се работи за првична инфекција, а не реактивација на болеста, го рефлектира преносот на причинителот и циркулирачките соеви во популацијата.

ТБЦ кај децата најчесто настанува како резултат на близок, интрафамилијарен контакт со болен од белодробна ТБЦ [11].

Главен извор на инфекција се болните од чиј спутум се изолирани бацилите на *M. tuberculosis* [1, 2, 11,12,13]. За да се намали инциденцата на туберкулозата, треба да се откриваат и адекватно да се третираат и лицата со латентна туберкулозна инфекција.

1.3. ПРЕДИЗВИКУВАЧ НА ТБЦ

Родот *Mycobacterium* генерално е поделен во три групи поради дијагностички и тераписки потреби. Дел од видовите на родот *Mycobacterium* се патогени, од кои најзначајни се една група на тесно поврзани бактерии означени како *Mycobacterium tuberculosis complex* кои кај својот домаќин предизвикуваат туберкулоза [15]. Бактериите од родот *Mycobacterium*, кои се групирани како комплекс *Mycobacterium tuberculosis* се карактеризираат со 99,9 % сличност на ниво на никлеотидот и идентична 16S rRNA секвенца, но се разликуваат меѓу себе во поглед на тропизмот кон домаќинот, фенотипот и патогенезата [16]. Меѓу патогените видови најзначајни се *M. tuberculosis*, кој предизвикува туберкулоза кај луѓето и *M. bovis*, кој предизвикува туберкулоза кај говедата [16]. *M. tuberculosis*, *M. africanum* and *M. canettii* примарно се патогени за човекот. *M. bovis* е патогена за животните и предизвикува туберкулоза кај говедата, козите, елени, слононите, фоките и другите животински видови [15]. Преку пресадување на *M. bovis* на различни вештачки подлоги се намалуваат неговите патогени својства и се добива атенуиран вид на *M. bovis* кој се користи за вакцинирање на луѓето против туберкулоза [17].

M. tuberculosis, откриен во 1882 година од Роберт Кох, е аеробен, факултативно интраклеточен спорорастечки ацидофилен бацил, природно патоген само за луѓе [1, 2].



Слика 3: *M.tuberculosis* под електронски микроскоп

Во бацилот има околу 1000 протеини, антигенски компоненти, а само мал дел од нив имаат улога во имунолошкиот одговор на инфекција со *M. tuberculosis* и се нарекуваат имунодоминантни антигени [18]. Клеточниот сид на *M. tuberculosis* е изграден од четири слоеви: првиот е пептидогликан (муреин) кој е ковалентно врзан на полисахаридот арабиногалактан, што претставува вториот слој. На него се врзуваат микобактеријните киселини кои го сочинуваат третиот слој. Површинскиот, четврти слој е составен од пептидогликолипиди, сулфолипиди, корд фактор (трахалоза 6,6 димихолат) и восоци. Во овој слој се наоѓаат и рецепторите за макрофаги и сероаглутинација [19].

1.4. ПАТОЛОШКИ МЕХАНИЗАМ НА ТУБЕРКУЛОЗНАТА ИНФЕКЦИЈА

M.tuberculosis навлегува во домаќинот преку мукозните површини, вообичаено преку белите дробови по инхалација на заразни капки при контакт со болен од активна туберкулоза, кој кашла или кива. Иако многу ретко, можни се и други патишта на пренос на инфекцијата, како дигестивниот тракт по ингестија на инфективен материјал, пример млеко, што е вообичаен пат за *M. bovis*, или преку оштетена кожа. [20]. По навлегување во организмот, бактеријата ќе биде преземена од фагоцитните клетки и доколку не биде уништена, тогаш таа може да го нападне домаќинот. Кај повеќето лица природниот тек на инфекцијата завршува со успешна активација на имунолошкиот одговор и уништување на бацилите, иако се можни и други исходи на инфекцијата [21, 22].

Многу почесто фагоцитозата на бактеријата од антиген презентирачките клетки предизвикува инфламаторен одговор, што доведува до акумулација на различни имунолошки клетки и формирање на гранулом. Во грануломот има мал број на инфилтрирани фагоцити кои се опкружени со моноцити, макрофаги и активирани лимфоцити [20]. Доколку инфекцијата биде успешно задржана во овој стадиум, тогаш грануломот пропаѓа и останува мала лузна која калцифицира. Доколку имунолошкиот одговор не може да ја контролира репликацијата на бактериите, тогаш грануломот расте во големина и се натрупуваат нови клетки. Дел од клетките во грануломот умираат, што води до некроза. Доколку клеточната деструкција и некроза го зафати сидот на бронхот, некротичниот материјал истекува во луменот на бронхијалното стебло, процес што е познат како кавитација. Ова доведува до типични симптоми на туберкулоза, кога

пациентот постојано кашла и има крв во спутумот. Во овој стадиум пациентот е високо заразен и овозможува ширење на инфекцијата преку аеросоли [20]. Микобактериумот по инфекцијата може да продолжи да се размножува и да расте, предизвикувајќи примарна туберкулоза. Можна е латентна туберкулозна инфекција (ЛТБИ) која претставува состојба на перзистентен имун одговор без знаци на болест, а можно е во текот на латентната инфекција да дојде до размножување на бацилите што предизвикува клинички манифестна болест во облик на постпримарна туберкулоза [20, 21, 22]. Отпорноста кон *M. tuberculosis* е различна кај децата во однос на возрасните. Кај нив функцијата на макрофагите и дендритичните клетки е незрела, не е комплетен развојот на Th-1 типот на Т-клеточен имунитет и затоа доенчињата и малите деца во реакција на имунолошки дразби повеќе одговараат со Th2 CD4+ типот на клеточен имунитет.

Инфекцијата со *M. tuberculosis* започнува со фагоцитоза на бацилите од белодробните дендритични клетки. Интеракцијата меѓу микобактериумот и рецепторите на домаќинот иницира интрацелуларна сигнализирачка каскада која резултира во неспецифичен проинфламаторен одговор [23]. Активацијата на макрофагите, која резултира со синтеза на радикали и создавање на фагозомско лизозомски комплекс, ја поттикнуваат два интерлеукини (IL) - интерферон гама (IFN- γ), кој го излучуваат сензибилизираните Т-лимфоцити по допирот со заразените макрофаги, и тумор некроза фактор алфа (TNF- α), кој го излучуваат самите макрофаги како одговор на автокринна стимулација. Дендритичните клетки мигрираат во регионалните лимфни јазли и ги активираат CD4+ и CD8+специфичните Т-лимфоцити. Важна карактеристика на клеточниот имун одговор е продукцијата на IFN- γ , клучниот цитокин во имунолошкиот одговор против *M. tuberculosis*. IFN- γ индуцира транскрипција на повеќе од 400 гени [24]. Една од најважните улоги на IFN- γ во туберкулозната инфекција е активирање на алвеоларните макрофаги и поттикнување на нивната микробицидна активност со помош на азотен оксид (NO) и реактивни кислородни радикали.

Тумор некроза фактор алфа (TNF- α) е друг значаен цитокин во имунолошкиот одговор кон микобактериумот. Тој, исто така, е одговорен за формирање на грануломот и учествува и во имунолошкиот и во имуномодулаторниот одговор. Овој цитокин ги активира макрофагите да произведуваат литички ензими кои ги уништуваат бацилите. [20, 21, 22, 23, 24]. Познато е дека се формираат најмалку два типа на физиолошки различни

грануломатозни лезии. Класичниот казеозен гранулом се состои од епителни макрофаги, неутрофилни гранулоцити и други имунолошки клетки опкружени со фибробласти, и има некротичен хипоксичен средиштен дел каде што се макрофагите во кои се наоѓа *M. tuberculosis*. Вториот тип на гранулом, претставува фиброзна лезија составена од фибробласти и многу малку макрофаги, а каде точно се наоѓа микобактериумот во овој тип на гранулом сè уште не е познато [129-131].

Грануломот на местото на инфекцијата го одделува микобактериумот од другиот дел на белите дробови и ја контролира неговата репликација [20]. Со неговото формирање и со успешен имунолошки одговор на домаќинот се запира прогресијата на болеста.

Кај мнозинството инфицирани лица клеточниот одговор се развива две до осум недели по инфекцијата. *M. tuberculosis* одговара на имунолошкиот одговор на домаќинот со транскрипција на многу од неговите гени што доведува до зголемена отпорност и преживување на микобактериумот во домаќинот. Комплексот early secreted antigenic target 6 (ESAT-6)/culture filtrate protein 10 (CFP-10) е пример на заштитен механизам на *M. tuberculosis* [25]. Комплексот се излучува од живи бактерии и е клучен за вирулентноста на *M. tuberculosis*. Покрај тоа, овој комплекс дисоцира на ниски рН-вредности (ацидификација на фагозомот во алвеоларните макрофаги) и ESAT-6 се вметнува во липидниот двослој на фагозомот, предизвикувајќи негова лиза и излегување на микобактериумот. ESAT 6, исто така предизвикува апоптоза на макрофагите и цитолиза на алвеоларните епителни клетки доведувајќи до дисперзија на *M. tuberculosis* во екстрацелуларното милје [25, 26]. Овие механизми заедно со дополнителните фактори од микобактериумот може да резултираат во латентна инфекција.

Сегашната дефиниција на ЛТБИ е заснована на динамичниот модел на инфекција каде што ендегената реактивација и ефективниот целуларен имунолошки одговор се одвиваат постојано во имунокомпетентни лица [26]. Од друга страна, ако дојде до нарушување на клеточниот имунитет (намален број или функционални абнормалности на Т-лимфоцитите, отсуство на TNF- α) инфицираните лица развиваат активна болест [16, 19].

1.5. ТУБЕРКУЛОЗНА БОЛЕСТ

Туберкулозата е заразна болест предизвикана од *M. tuberculosis*, но и од други микобактерии, како *M. bovis* и *M. africanum* што во Европа е исклучително ретко [17].

1.5.1. Примарна туберкулоза

Примарна туберкулоза настанува по првиот контакт со причинителот на болеста. Се карактеризира со создавање на примарен комплекс кој се состои од примарно жариште на влезната врата на инфекцијата и патолошки промени во регионалните лимфни јазли, односно лимфангитис и лимфаденопатија.

Според влезната врата на инфекцијата, постојат повеќе форми на примарна ТБЦ: белодробна туберкулоза (најчеста), туберкулоза на тонзилите, на кожата и на цревата. Кај децата од училишна возраст и кај адолесцентите, најчесто поминува асимптоматски, а кај доенчињата и помалите деца се манифестира со локални и општи симптоми [15, 17].

По навлегување на туберкулозните бацили до терминалните дишни патишта и воспоставување на инфекција, настанува локализиран инфламаторен процес во белите дробови, познат како примарен, Ghon-ов фокус, од каде што бацилите се дренираат преку лимфните патишта до регионалните лимфни јазли. Примарниот фокус, заедно со афектираните лимфни јазли, се нарекува примарен (Ghon-ов) комплекс. Оваа фаза на болеста се случува 3-8 недели по примарната инфекција и на неа може да укажува пролонгираната фебрилност, видливиот примарен комплекс на рендгенографија на белите дробови, како и реакциите на хиперсензитивност, како еритема нодозум и конверзија на туберкулинскиот кожен тест. Комплициран Ghon-ов фокус вклучува паренхимска деструкција и формирање кавитација, што може да доведе до интраbronхијално ширење на инфекцијата со бронхопневмонична консолидација.

Пред имунолошкиот одговор да ја запре прогресијата на болеста, бацилите можат да навлезат во циркулацијата преку регионалните лимфни јазли и да настане окултно хематогено ширење на инфекцијата. Најмалите деца имаат најголем ризик и најбрза прогресија на болеста.

1.5.2. Постпримарна туберкулоза

Постпримарната ТБЦ настанува со расејување на туберкулозните бацили од примарното жариште. За разлика од примарната, во овој облик на болеста нема оток на регионалните лимфни јазли. Најважни облици на постпримарна ТБЦ се: милијарна ТБЦ, туберкулозен менингитис, туберкулозен плеуритис и перитонитис, остеоартикуларна ТБЦ и ТБЦ на бубрезите [15, 17]. Периодот од 1 до 3 месеци по примарната инфекција, како последица на хематогената дисеминација на бацилите, е на најголем ризик од развој на туберкулозен менингитис и дисеминирана-милијарна туберкулоза кај малите деца. Прогресијата на болеста до милијарна ТБЦ и менингитис е многу ретка, освен кај децата помали од 2 години или имунокомпромитираните. Во последните десетина години во Р Македонија немало случај со милијарна ТБЦ или туберкулозен менингитис во детската возраст. Тоа е еден од показателите на успешна вакцинација со BCG, бидејќи е познато дека оваа вакцина обезбедува заштита од туберкулозен менингитис, но не спречува развој на белодробна туберкулоза. Во Р Македонија, во 2016 година, опфатот на вакцинација со BCG бил 97,2 %.

По 3-7 месеци од примарната инфекција може да дојде до појава на бронхијално засегање предизвикано од заболен лимфен јазол кај малите деца под 5 години, или плеврален излив кај постарите деца. Акумулацијата на лимфоцитна течност со боја на слама, претставува хиперсемзотивен одговор. Локализираната колекција на течност може да означува туберкулозен емпием, што резултира од активно размножување на бацилите во плевралниот простор. Од 1 до 3 години по примарната инфекција претставува период на можен развој на остеоартикуларната туберкулоза кај децата под 5 години и возрасен тип на белодробна туберкулоза кај постарите деца и адолесцентите. Возрасниот тип се карактеризира со зафаќање на апикалните и постериорните сегменти на горните лобуси, како и на апикалните сегменти на долните лобуси на белите дробови. Компликации што може да настанат се прогресивно формирање на кавитации или бронхогена дисеминација[132].

1.5.3. Клиничка манифестација

Клиничката презентација на туберкулозата се разликува зависно од степенот на отпорност на организмот. Белодробната туберкулоза е примарна манифестација на патогенот, каде што осетливите пациенти покажуваат класични клинички симптоми како: хронична кашлица, продукција на спутум, губиток на апетит и тежина, треска, препотување во текот на ноќта и хемоптиза. Кај поголемите деца и адолесцентите, примарната туберкулоза може да помине и асимптоматски, а кај помалите деца се манифестира со општи и неспецифични симптоми, како пролонгирана фебрилност. Кај 10 % од новите случаи на туберкулоза, болеста се манифестира со екстрапулмонални форми, кои почесто се јавуваат кај пациенти инфицирани со ХИВ. Екстрапулмоналните форми на болеста може да го зафатат мозокот, менингиите, рбетниот мозок, кожата, коските, внатрешните органи и органите на генитоуринарниот тракт [1, 17].

1.5.4. ДИЈАГНОЗА НА ТУБЕРКУЛОЗА

Дијагнозата на туберкулоза кај децата се базира на анамнестички податоци, епидемиолошки податоци, клиничка слика, лабораториски анализи, рендгенолошки испитувања, имунолошки иследувања - туберкулински кожен тест (eng. tuberculin skin test) (TST) и Interferon-Gamma Release Assays (IGRA) тестови, а единствен сигурен доказ за дијагноза е изолација на причинителот од биолошкиот материјал [37, 38]. Податоците од анамнезата вообичаено вклучуваат фебрилност и непродуктивна кашлица која трае повеќе од 2 до 3 недели, болка во градниот кош, ноќно потење, намалена активност, намален апетит, губиток во телесната тежина и лесно отежнато дишење.

Поставувањето дијагноза кај децата е отежнато затоа што: симптомите се често многу дискретни; нема самопрепознавање на болеста; директните микроскопски препарати се позитивни само кај 10 до 15 %; а позитивни култури се добиваат кај 30 до 50 % од децата што искашлуваат, а кај помалите возрасни групи и помалку од 20 % [37, 38].

Лабораториските анализи играат важна улога при поставувањето дијагноза на туберкулозата, следење на терапијата и спречување на понатамошната трансмисија на

болеста, бидејќи клиничките знаци и симптоми на болеста не се доволно јасни и специфични.

Радиографските наоди на белите дробови може силно да укажат на присуство на туберкулозата, но и други белодробни болести може да дадат слични радиолошки промени. Лабораториските и микробиолошките резултати при дијагноза на туберкулозата треба да бидат точни и достапни за најкраток временски рок. Најголем дел од лабораториските методи што се користат при дијагноза на туберкулозата се воспоставени во 19 век и до денес претрпеле многу малку модификации. Сепак, во последните години на 20 век беа воведени молекуларните биолошки методи кои доведоа до револуционерни промени во поставувањето на лабораториската дијагноза на туберкулозата [15]. Преку хематолошки и биохемиски анализи се проценува општата состојба, функцијата на црниот дроб и бубрезите пред почетокот на антитуберкулозната терапија, и во текот на истата за следење на можните несакани токсични ефекти.

а) Микробиолошка дијагноза

Микробиолошката обработка зазема многу важно место во дијагностичкиот алгоритам за детска ТБЦ. Како материјал за поставување микробиолошка дијагноза на ТБЦ може да се користи искашлок, плеврален пунктат, бронхоалвеоларен лават, гастричен лават, крв, урина, столица, ликвор, како и материјал од биопсија на зафатените органи. Микробиолошки методи што се употребуваат се: откривање на ацидо-алкохолорезистентни бацили (АРБ) со директен микроскопски преглед, култивација на тврди или течни подлоги и испитување на осетливоста на антитуберкулотици [39].

Микроскопски препарат

Директниот микроскопски препарат претставува најевтина, најлесна и најбрза постапка во микробиологијата за докажување на туберкулозата. Овој метод има специфичност од 99 % за видовите од родот *Mycobacterium*. Треба да се напомене дека сензитивноста на директниот микроскопски препарат не е на задоволително ниво. Кога се испитува само еден микроскопски препарат кај 25 до 50 % од пациентите со активна туберкулоза се добива лажно негативен резултат. Затоа, позитивниот тест при директен микроскопски препарат е корисен патоказ при дијагноза на туберкулозата, додека

негативниот резултат при директен микроскопски препарат не ја исклучува туберкулозата [15]. Во детската возраст, микроскопските препарати се позитивни само во 10-15 % од случаите со туберкулоза.[37,38]. Методот на директна микроскопија се заснова на фактот што обвивката на микобактериумот, заради големата количина на липиди, врзува базична боја. За позитивност на микроскопскиот наод поголема од 95 % треба да има повеќе од 10 000 бацили во 1 ml спутум [39]. Предноста на директната микроскопија е најзината едноставност и брзина, а недостаток е малата сензитивност и неможност од разликување на *M. tuberculosis* од другите микобактерии [15, 16, 39].

Културелно испитување

Докажувањето на причинителот преку култивирање на различни подлоги е ефикасен метод за докажување на туберкулозата. Култивацијата е најважен метод бидејќи со неа се докажува видот на микобактериите. За култивација на бактериите може да се користат тврди и течни подлоги [15, 17].

Од тврдите подлоги најчесто се користи подлогата на Löwenstein-Jensen која се базира на подлога од јајце. Подлогите што се базираат на агар како Middlebrook 7H10 и 7H11 агар, нудат подобри можности за испитување на морфологијата на колониите и откривање на мешани колонии во споредба со подлогите што се базираат на јајце. Треба да се напомене дека за раст на колониите неопходни се 6 до 8 недели, а за испитување на сензитивноста кон одредени лекови потребни се дополнителни 4 до 6 недели. За целата постапка потребни се 2 до 3 месеца што претставува долг период за поставување на дијагноза. Според досегашните сознанија, кај 29,5 % од пациентите со активна туберкулоза, причинителот на туберкулоза не може да се докаже само со култивирање на цврста подлога и затоа се препорачува и употреба на течни подлоги [15, 17].

Од течните култури најчесто се употребува хранилиште во системот ВАСТЕС ТВ. При употреба на течни подлоги, растот на *M. tuberculosis* во подлогата може да се открие за 1 до 2 недели, зависно од бројот на бактериите во примерокот. Во течните подлоги се наоѓа компонента означена како флуоресцин која се распаѓа со растот на *M. tuberculosis*. Со одредување на количината на распаднатиот производ се одредува индексот на раст на бактеријата [15, 17].

Позитивни култури се добиваат кај 30 до 50 % од децата, но важно е да се истакне дека негативна култура никогаш не ја исклучува дијагнозата на детска ТБЦ. При секоја позитивна култура се прави тест на резистенција со што се испитува осетливоста кон антиотуберкулозиците [40, 41].

Генерално се препорачува цврстите подлоги да не се користат сами при дијагноза на туберкулозата туку да се употребуваат заедно со течните подлоги со цел да се зголеми сензитивноста за култивирање на бактериите [15].

Молекуларни методи

Употребата на техниките на амплификација на нуклеинските киселини во рутинска дијагноза на туберкулозата овозможува брза и точна дијагноза на видот на *Mycobacterium* за 24 часа [42]. Кај овие техники со употреба на ензимски реакции се врши амплификација на бактериската DNA во забележливо количество за краток временски период. Најчесто употребуван метод е полимеразата верижна реакција (polymerase chain reaction - PCR) при која постои можност и од лажно позитивни резултати [39]. Gene Xpert MTB/RIF тестот кој е одобрен од СЗО во 2010 година, открива секвенци специфични за *M. tuberculosis* DNA и мутации асоцирани со резистенција на рифампицин. Овој тест има висока сензитивност и специфичност во дијагнозата на белодробната туберкулозна болест и е достапен во нашата земја во Институтот за белодробни заболувања и туберкулоза, Скопје.

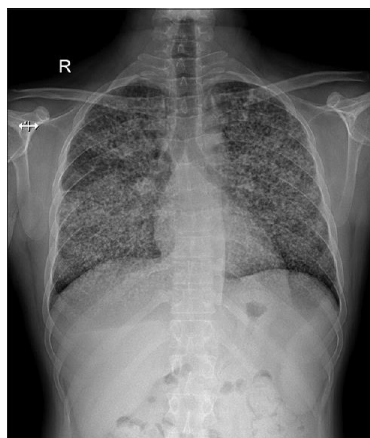
б) Радиолошка дијагноза

Бидејќи најчеста е белодробната ТБЦ, рендгенограмот на белите дробови е составен дел од алгоритмот за дијагноза. Промените што може да укажуваат на ТБЦ се хиларна и медијастинална лимфаденопатија, перибронхитични и паренхимни инфилтративни сенки, сегментна или лобарна хиперинфлација, ателектаза, алвеоларна консолидација или плеврален излив. Лесно препознатлив радиолошки наод се каверните и милијарната ТБЦ. Каверните се многу ретки кај малите деца, но често се гледаат кај адолесцентите. Милијарната ТБЦ радиолошки се прикажува со микронодуларни, макронодуларни или гранулоретикуларни облици и е најчеста кај доенчињата и малите деца [43, 44, 45].

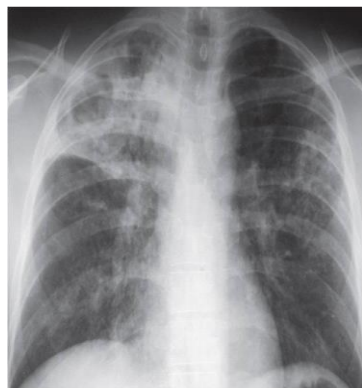
Од другите радиолошките методи, ехосонографијата се употребува за дијагноза и следење на плевралните или перикардијалните изливи, абдоминална лимфаденопатија или асцит. Компјутеризираната томографија на белите дробови нуди извонредна визуелизација на промените во белите дробови и медијастинумот, но истата треба да е резервирана за комплицирани случаи заради високото зрачење и цената на чинење.

Магнетната резонанца е посензитивна за откривање на промени во мозочното стебло или рани дефекти во перфузија кај пациентите со туберкулозен менингитис, и исто така обезбедува подобра евалуација на 'рбетниот столб и меките ткива.

На следните слики се прикажани радиолошки промени на белите дробови кај пациенти со различни форми на туберкулоза.



Слика 4: Милијарна туберкулоза во детска возраст



Слика 5: Кавернозен облик на детска туберкулоза



Слика 6: Туберкулозен плеврален излив

в) Имунолошка дијагноза

Од имунолошките методи се употребува туберкулинскиот кожен тест на Mantoux, *in vivo* тест кој се базира на мерење на реакцијата на одложена преосетливост по вбригување на смеса од микобактериски антигени, PPD (eng, purified protein derivative) под кожата на подлактицата. Исто така, во поново време достапни се *in vitro* тестови Interferon-Gamma Release Assays (IGRA) преку кои се одредува концентрацијата на IFN- γ ослободен од T-лимфоцитите по инкубација со специфични антигени за *M. tuberculosis*.

1.5.5. ТЕРАПИЈА НА ТБЦ

Туберкулозата е излечива болест доколку се примени стандардниот протокол за третман на туберкулозата во период од 6 месеци. Во денешно време, основата на антитуберкулозната терапија ја чинат четири антитуберкулотици: изонијазид, рифампицин, пиразинамид етамбутол и алтернативно, стрептомицин. Препорака е од почетокот на лекувањето до видливо подобрување на состојбата или до добивање негативна култура, децата да се лекуваат во болница. Во почетната фаза која трае два месеца се даваат барем три лека (изонијазид, рифампицин и пиразинамид), а според

состојбата и обликот на болеста се додава и етамбутол. По оваа фаза, лекувањето продолжува со два лека (изонијазид и рифампицин) во текот на 4 месеца. Непридржувањето кон овој долготраен третман на туберкулозата, доведува до појава на резистентност кон различни лекови што се користат во третманот на туберкулозата. Лековите што се користат во третманот на туберкулозата се исти или непроменети во изминативе 50 години. Долгиот временски период на лекување, несаканите ефекти на лековите, слабата ефикасност на лековите, појавата на резистентни соеви во голема мера ги отежнуваат напорите за контрола и искоренување на болеста. Затоа, истражувањата се насочени кон откривање на нови лекови што ќе бидат поефикасни во третманот на туберкулозата [46].

1.6. ЛАТЕНТНА ТУБЕРКУЛОЗНА ИНФЕКЦИЈА

1.6.1. Дефиниција на ЛТБИ

Латентната туберкулозна инфекција (ЛТБИ) е дефинирана како состојба на перзистентен имун одговор на стимулација со антигени на *M. tuberculosis* без клинички манифестна активна туберкулоза. [50]. ЛТБИ претставува инфекција со бацилите на *M. tuberculosis* без знаци на болест, без рендгенолошки промени и без бактериолошка потврда за ТБЦ. Заедничко за ТБЦ и ЛТБИ се позитивните TST и IGRA-тестови. ЛТБИ е дефинирана како инфекција со *M. tuberculosis* внатре во грануломот, каде што останува во нереплицирачка состојба, но ја задржува способноста да излезе од состојба на мирување и да предизвика активна ТБЦ. Од неодамна, постојат експериментални податоци кои го поддржуваат динамичкиот модел на ЛТБИ, според кој постојано се одвива ендогена реактивација и воспалителен одговор [26]. Овој модел е поддржан со норвешката студија од 2010 година, која покажала дека можноста за реактивација на туберкулозата се намалува со текот на времето [27]. Динамичкиот модел нуди и објаснување за дејството на изонијазидот, лек што делува само на активно реплицирачките бацили. Како што изонијазидот ги спречува епизодите на реинфекција со бацили ослободени од фаза на мирување, заедно со забавеното дренирање и уништување на нереплицирачките бацили во желудникот, постепено доаѓа до слабеење на латентната инфекција [26].

Веројатноста ЛТБИ во текот на животот да премине во активна туберкулоза, кај доенчињата изнесува 43 %, кај децата на возраст од 1 до 5 години изнесува 29 %, а кај децата на возраст од 11 до 15 години изнесува 15 %. Кај децата со ЛТБИ помали од пет години, ризикот за развој на ТБЦ две години по инфекцијата е 20-40 % [12, 14].

Децата со ЛТБИ се резервоар на идни болни, па кога се зборува за ерадикација на ТБЦ не е доволно само да се лекуваат болните со активна туберкулоза, туку да се дијагностицираат и соодветно третираат оние со ЛТБИ [12, 13, 14].

Постојат главно две групи лица со поголем ризик од развој на ТБЦ. Првата група ја сочинуваат: лицата што живеат со заболени од ТБ или често доаѓаат во контакт со нив, потоа децата каде што постои конверзија на туберкулинскиот кожен тест од негативен во позитивен, имигрантите од региони со голем број на заболени од ТБ, лицата што работат со заболени во медицински установи. Во втората група спаѓаат лицата што имаат некои ризични фактори како: HIV серопозитивните, корисниците на дрога и алкохол, потхранетите, лицата што примаат имуносупресивна терапија, состојбите по трансплантација на органи, силикоза итн.

Најзаразни се оние болни од ТБЦ во фазата кога имаат позитивен наод на директната микроскопија на спутум, а најголема е опасноста од близок интрафамилијарен контакт [12, 13, 14, 15, 17].

1.6.2. ДИЈАГНОЗА НА ЛТБИ

Дијагнозата на ЛТБИ претставува предизвик бидејќи не постои златен стандард. Единствен утврден факт е ризикот од развој на активна туберкулоза. Тоа делумно зависи од вируленцијата на бацилите, а во најголем дел зависи од состојбата на домаќинот-состојба на исхранетост, имуношкиот систем и др. Одредени клинички состојби и тераписки постапки придонесуваат ЛТБИ да се развие во активна ТБЦ (AIDS, хронична ренална инсуфициенција, шеќерна болест, хемотерапија, имуносупресивна терапија) [15, 17].

- Туберкулински кожен тест (TST)

До неодамна, туберкулинскиот кожен тест по методот на Mantoux, беше единствен достапен имунолошки тест за дијагоза на ЛТБИ. Претставува *in vivo* тест кој се базира на мерење на реакцијата на одложена преосетливост по вбригување на смеса од микобактериски антигени, таканаречен PPD (eng. purified protein derivative) под кожата на подлактицата [28]. Во нашата земја се користи PPD од 5 туберкулински единици (TU). Големината на индурацијата на местото на вбригување е сразмерна со јачината на имунолошкиот одговор на компетентните клетки. Дијаметарот на индурацијата се чита по 72 часа [29].

Позитивен наод може да се очекува ако поминале две до осум недели по инфекцијата со *M. tuberculosis*. Бидејќи растворот на PPD содржи повеќе од 200 протеински компонентни кои се заеднички за повеќето микобактерии, туберкулинскиот тест може да даде лажно позитивни резултати кај лицата вакцинирани со BCG или биле во контакт со нетуберкулозни микобактерии [30].

Можни се и лажно негативни резултати кај лицата со оштетен или незрел клеточен имунитет како болните инфицирани со HIV, болните со јатрогено предизвикана имunosупресија, деца во помалата возраст поради слаба реактивност на кожата, или ако погрешно се прочита како негативен [31].

Според кажаното, јасно произлегува дека TST не е сигурен тест за откривање на ЛТБИ особено во земјите каде што постои BCG вакцинација, како што е нашата.

- Interferon-Gamma Release Assays (IGRA) тестови

Од пред десетина години во подрачјето на лабораториската дијагностика на ЛТБИ се користат сознанијата за имунолошкиот одговор на организмот на инфекцијата со *M. tuberculosis*. Новиот пристап се базира на *in vitro* тестови од полна крв преку кои се одредува концентрацијата на IFN- γ ослободен од Т-лимфоцитите по инкубација со специфични антигени за *M. tuberculosis*. Концентрацијата на IFN- γ се мери со методот на ензимски врзан имуносорбент тест (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay-ELISA) [15, 17].

Од 2004 година во употреба е Quantiferon TB gold тестот (QFT) кој даде голем придонес во дијагнозата на ЛТБИ и ТБЦ. Специфичните антигени што се користат во овој тест се early secreted antigenic target-6KD (ESAT-6), culture filtrate protein-10KD (CFR-10) и

ТВ 7,7. Овие антигени не постојат во BCG (*Bacillus Calmette-Guerin*) и во повеќето нетуберкулозни микобактерии, освен *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* [31, 32]. Со тоа сосема е мала можноста за лажно позитивни резултати на тестовите IGRA-s бидејќи Т-лимфоцитите кај здрави неинфицирани лица, вакцирани со BCG, како и на оние инфицирани со нетуберкулозни микобактерии, не лачат гама интерферон по стимулација со смесата од антигени ESAT-6, CFP-10 и ТВ 7.7 [33].

Tuberculosis complex	антигени		Environmental strains	антигени	
	ESAT	CFP		ESAT	CFP
M tuberculosis	+	+	<i>M abcessus</i>	-	-
M africanum	+	+	<i>M avium</i>	-	-
M bovis	+	+	<i>M branderi</i>	-	-
BCG substrain			<i>M celatum</i>	-	-
gothenburg	-	-	<i>M chelonae</i>	-	-
moreau	-	-	<i>M fortuitum</i>	-	-
tice	-	-	<i>M gordonii</i>	-	-
tokyo	-	-	<i>M intracellulare</i>	-	-
danish	-	-	M kansasii	+	+
glaxo	-	-	<i>M malmoense</i>	-	-
montreal	-	-	M marinum	+	+
pasteur	-	-	<i>M oenavense</i>	-	-
			<i>M scrofulaceum</i>	-	-
			<i>M smegmatis</i>	-	-
			M szulgai	+	+
			<i>M terrae</i>	-	-
			<i>M vaccae</i>	-	-
			<i>M xenopi</i>	-	-

Слика 7: Специес специфични антигени ESAT-6 и CFP-10

Голема предност на овој тест е можноста за одредување негативна и позитивна контрола. Негативната контрола дава увид во количината на циркулирачкиот IFN- γ кој е присутен независно од дразбите *ex vivo*. Позитивната контрола пак, се користи за проверка на способноста на Т-лимфоцитите на соодветна да дразба ослободат IFN- γ , како и за проверка на исправноста на постапката со примерокот, со што би се избегнале лажно негативни резултати [31, 32, 33].

Позитивните својства на тестовите IGRA е нивната висока дијагностичка сензитивност и специфичност, репродуктивност, можност за стандардизација. Кај лица што не се вакцинирани со BCG, специфичноста на Quantiferon TB gold тестот изнесува 99 %, а кај вакцинираните 96 %, додека сензитивноста се движи до 78 % (Pai et al. 2008) [34].

Одредувањето на IFN- γ придонесува за попрецизна дијагноза на ЛТБИ, особено при несовапаѓање на резултатите со TST. Кога постои сомнеж за ЛТБИ потребно е да се применат *in vivo* и *in vitro* тестови. Интерпретацијата на резултатите е наједноставна кога двата теста се позитивни или негативни, односно дијагнозата на ЛТБИ на тој начин е потврдена или исклучена. При TST позитивно/IGRA негативно несовапаѓање, најверојатно се работи за лажно позитивен TST, иако е можно да биде лажно негативен IGRA-тестот. Во тој случај, за 8-10 недели треба да се повтори IGRA-тестот. Според Veerapathran и соработниците, за конверзија на IFN- γ се работи ако се задоволени два критериума: промена на вредноста од негативна во позитивна и пораст на концентрацијата за најмалку 30 % од почетната [35]. Кај TST негативно/IGRA позитивно несовапаѓање, се работи за ЛТБИ, а туберкулинскиот тест е лажно негативен.

Истражувањата за ЛТБИ кај децата покажале дека IGRA-тестовите имаат предност пред TST-тестот поради поголемата специфичност, добрата негативна предиктивна вредност, добрата корелација со степенот на изложеност на инфекцијата. Затоа, IGRA-тестовите се прв избор кај децата што примиле BCG-вакцина и на тој начин се корисни во редуцирање на превентивната медикаментозна терапија заради можни лажно позитивни резултати на TST-тестот [36].

1.6.3. Медикаментозна превенција на ЛТБИ

Според СЗО, медикаментозна превенција на ЛТБИ се спроведува со изонијазид во доза од 10 mg/kg еднаш дневно, во период од шест месеци. Алтернативен режим на терапијата е изонијазид + рифампицин во доза од 5-10 mg/kg за изонијазид, 10 mg/kg за рифампицин дневно, во текот на 3 месеци. При контакт со болен од ТБЦ резистентна на изонијазид, истата се спроведува со рифампицин во доза од 10 mg/kg дневно во текот на четири месеци [15, 17, 46]. Неопходно е следење на пациентите за време на спроведување на превенцијата, како и по нејзиното завршување, во текот на најмалку две години.

2. МОТИВ ЗА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Туберкулозата претставува глобален здравствен проблем која е предмет на постојан интерес и внимание на клиничарите и општествената заедница.

Во Република Македонија недостасуваат пишани податоци за улогата на IGRAs-тестовите во дијагностика на туберкулозата во детската возраст.

Иако туберкулинскиот кожен тест е широко достапен, лесен за изведување и интерпретација и многу поевтин, треба да се напомене дека дава лажно позитивни резултати кои може да го зголемат бројот на случаи што непотребно примаат медикаментозна превенција.

Од наведеното, јасно произлегува и мотивот за ова истражување. Оваа студија ќе ни обезбеди сознанија за туберкулозата во детската популација во нашата земја. Ќе ни овозможи утврдување на прецизни дијагностички критериуми, односно алгоритам за дијагноза на ЛТБИ и активна ТБЦ во детската возраст. Со споредување на нашите резултати со податоците објавени во светската литература, ќе добиеме увид за состојбата со активната ТБЦ и ЛТБИ во Р Македонија, како и за местото на Quantiferon TB gold тестот во дијагностиката.

3. ХИПОТЕЗА И ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

3.1. ХИПОТЕЗА на истражувањето

Наша работна хипотеза е дека *Quantiferon TB gold* тестот е поефикасен од другите дијагностички процедури достапни во Р Македонија во поставување на дијагноза на туберкулозната инфекција во детската возраст, посебно при поставување на дијагнозата на ЛТБИ. Овој тест ќе овозможи рационално и правилно користење на хемиопрофилактиката при сомневање за ЛТБИ кај децата, а ќе помогне и при несигурна дијагноза на активна ТБ.

3.2. ЦЕЛИ на истражувањето

- Да се одредат вредностите на IFN- γ кај децата со активна ТБЦ, децата со ЛТБИ и кај здравите деца во Р Македонија.
- Да се одреди сензитивноста и специфичноста на IFN- γ .
- Да се одредат нови гранични (cut off) дијагностички вредности на концентрацијата на IFN- γ во нашата земја.
- Да се одреди влијанието на возраста на концентрацијата на IFN- γ .
- Да се одредат вредностите на индурација на TST кај деца со ЛТБИ и ТБЦ.
- Да се одреди сензитивност на TST во дијагнозата на активна ТБЦ и ЛТБИ.
- Да се утврди корелацијата меѓу IFN- γ и TST.
- Да се одреди зависноста на вредностите на TST и на IFN- γ од контактот со ТБЦ.
- Да се утврди практичната примена на *Quantiferon TB gold* тестот во дијагнозата на активна ТБЦ и ЛТБИ во детската возраст, како и неговиот придонес во одлуката за медикаментозна превенција кај децата кај кои постои со сомнение за латентна ТБ-инфекција.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

За реализирање на поставените цели на оваа студија е добиено одобрение од Етичкиот комитет за истражување на луѓе при Медицински факултет во Скопје. Оваа студија се спроведе на Институтот за белодробни заболувања кај децата - Козле, во Скопје.

4.1. Испитаници

Критериуми за вклучување

- деца на возраст од 1 до 15 години
- вакцинирани со BCG по раѓање
- позитивен контакт со болен од туберкулоза
- без претходна историја за туберкулоза
- информирана согласност од еден од родителите.

Во изработката на оваа докторска дисертација се анализирани 100 испитаници упатени за иследување заради можна инфекција со *M. tuberculosis* во Институтот за белодробни заболувања кај децата - Козле во Скопје, Р Македонија, во периодот од септември 2014 до јануари 2018 година. Контролната група ја сочинуваат 33 здрави деца. Возраста на испитаниците се движи од 1 до 15 години, поделени во две возрастни групи: 1-5 години и над 5 години.

Кај испитаниците од оваа студија се анализирани следните параметри: демографските карактеристики, историјата на изложеност на активна туберкулоза, присуството на белег од вакцината BCG, радиографски наоди на белите дробови, директни препарати за ацидо-алкохолно резистентни бацили од спутум (ARB), култура според Левенштајн-Јенсен, туберкулинскиот кожен тест и вредноста на INF- γ со помош на Quantiferon TB gold тестот, како и времетраење на антитуберкулозната терапија кај децата со активна ТБ и медикаментозната превенција кај децата со ЛТБИ.

За секое дете е добиена информирана согласност од еден од родителите.

Испитаниците се поделени во три групи:

1. Деца за кои има сомнение за латентна туберкулозна инфекција (n=64): асимптоматски пациенти, со позитивен контакт со болен од ТБЦ или туберкулин хиперреактори, уреден РТГ наод на белите дробови.
2. Деца за кои има сомнение за активна туберкулоза (n=36): пациенти со симптоми за туберкулоза, со РТГ промени на белите дробови, со или без позитивен контакт со болен од ТБЦ.
3. Контролна група на здрави деца (n=33)

Групата деца со активна ТБЦ се состои од 36 пациенти на возраст од 1 до 15 години, од кои 19 од машки, а 17 од женски пол. Групата ЛТБИ содржи 64 пациенти, 35 од машки, а 29 од женски пол. Контролната група на здрави деца се состои од 33 деца, 18 машки и 15 женски.

Критериуми за исклучување

- пациенти со кардиопулмонални заболувања
- историја на тешка алергиска реакција кон прочистен протеински дериват
- деца со остеоартикуларна форма на туберкулоза
- деца чии родители не дадоа писмена согласност за учество во студијата.

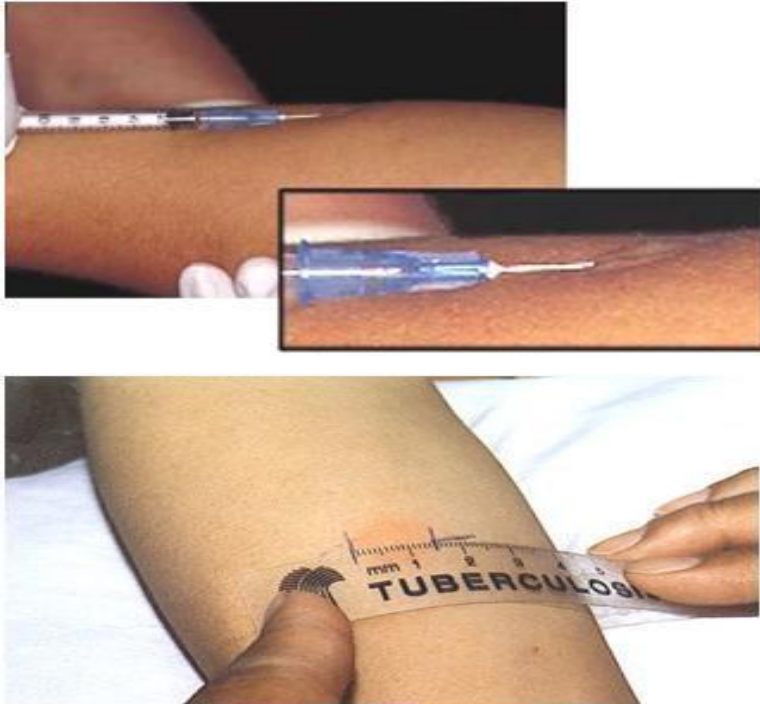
4.2. Методи

4.2.1. Методи in vivo

Туберкулински кожен тест

Туберкулинскиот кожен тест се спроведуваше на воларната страна на левата подлактица со вбригување на 0,1 ml прочистен протеински дериват (PPD) од 5 туберкулински единици (TU) интрадермално. По 72 часа беше направено мерење на дијаметарот на индурација со помош на линијар.

Кај пациентите што немаат белег од вакцинација со BCG, вредноста на TST дијаметарот ≥ 6 mm се земаше како гранична за позитивен кожен тест. Кај пациенти што имаат белег од вакцинација со BCG, вредноста на TST дијаметар ≥ 15 mm се земаше како гранична за позитивен кожен тест. Кај пациентите што имаат лузна од BCG, вредноста на TST тестот < 15 mm се сметаше како негативна [47,51].



Слика 8: Приказ на изведување и мерење на индурацијата кај туберкулинскиот кожен тест

4.2.2. Методи *ex vivo*

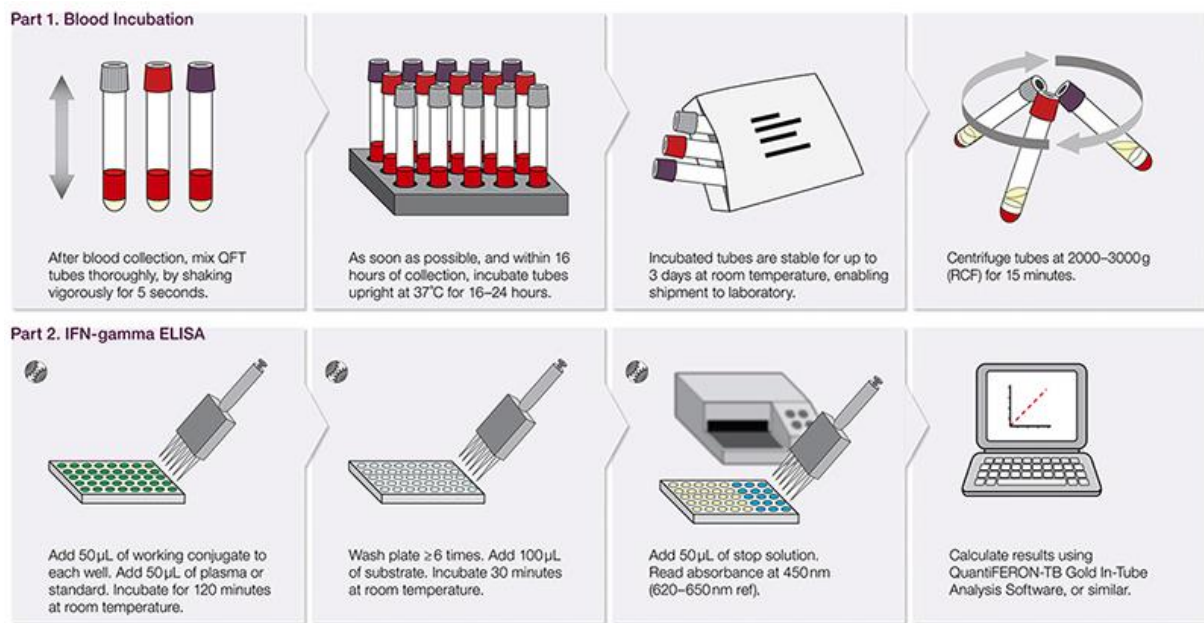
***Quantiferon TB gold* тест**

Quantiferon TB gold тестот се изведуваше на Институтот за белодробни заболувања и ТБЦ, според упатствата на производителот. Испитувањето се одвива во две фази: во првата фаза се врши инкубација на целата крв со антигени, а во втората фаза се спроведува мерењето на IFN- γ според методот на ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). За реализирање на тестот од пациентите беше земена венска крв по 1 ml во три епрувети кои содржат:

1. специфични антигени на *M. tuberculosis* (ESAT-6, CFP10 и TB7.7),
2. митоген фитохемаглутинин (позитивна контрола) и
3. не содржи ниту митоген ниту специфични антигени (негативна контрола).

Во рок од 2 до 6 часа по земањето на крв, епруветите со крв се ставаат за инкубација на 37 °C. Инкубацијата на епруветите трае 24 часа, потоа епруветите се центрифугираат и се одвојува плазма која се замрзнува на -70 °C. Концентрацијата на IFN- γ се мери со методот ELISA со помош на комерцијален тест *Quantiferon TB gold* (Cellestis,

а QIAGEN Company). Вредностите на INF- γ се изразени во интернационални единици на милилитар и граничната вредност за позитивен тест е INF- $\gamma \geq 0,35$ IU / ml. Вредностите $\geq 0,35$ IU/mL (позитивен наод) укажуваат на инфекција со *M. tuberculosis*, но не разликуваат латентна инфекција од активна болест. Вредностите помали од 0,35 IU/mL (негативен наод) укажуваат дека инфекцијата со *M. tuberculosis* е малку веројатна. Трета можност е добивање на наодреден (eng. indeterminate) резултат, кој се добива кога концентрацијата на IFN- γ во циркулацијата е зголемена (негативна контрола > 8 IU/mL), или кога е недоволен бројот на Т-лимфоцити, односно нарушена е нивната способност на соодветна дразба со митогенот да ослободуваат IFN- γ (позитивна контрола $< 0,5$ IU/mL).



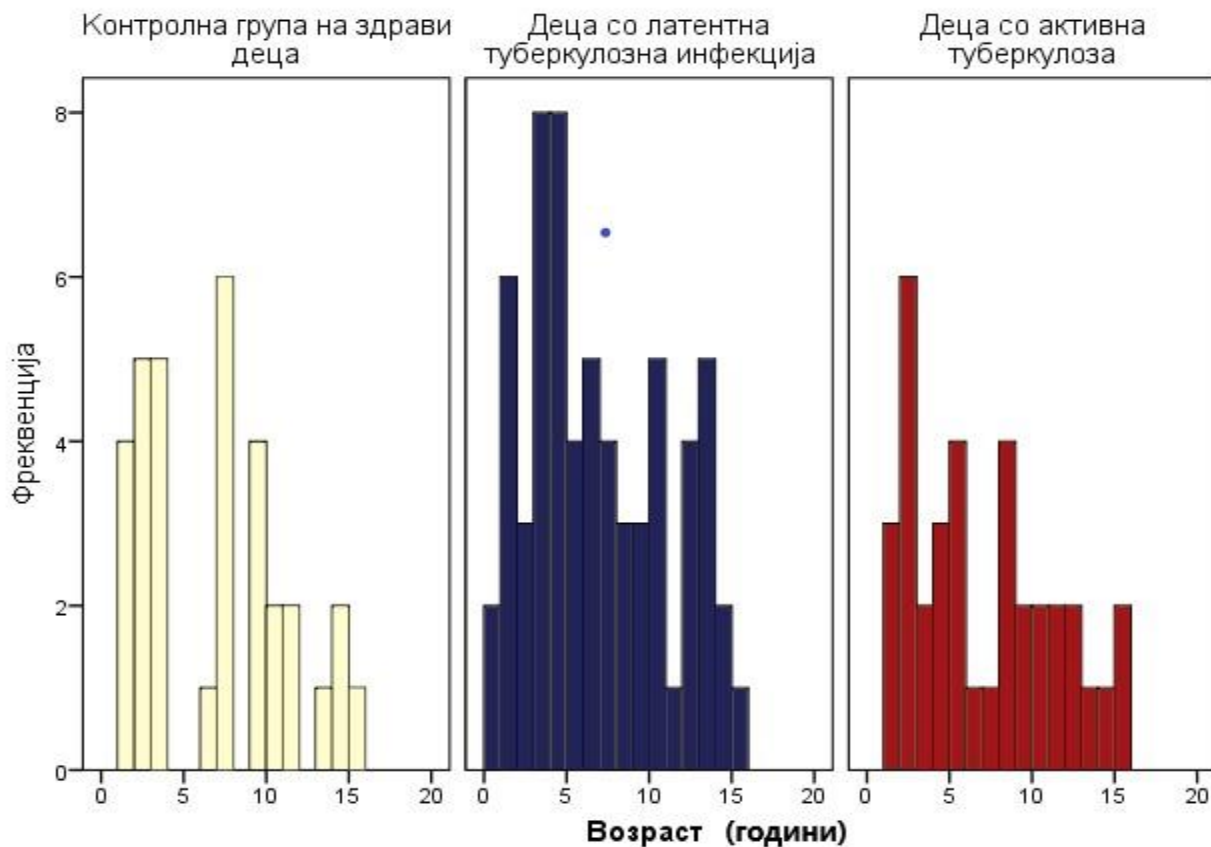
Слика 9: Изведување на Quantiferon TB gold тест (позајмено од Quantiferon TB gold test package insert)

4.3. Статистичка обработка на податоците

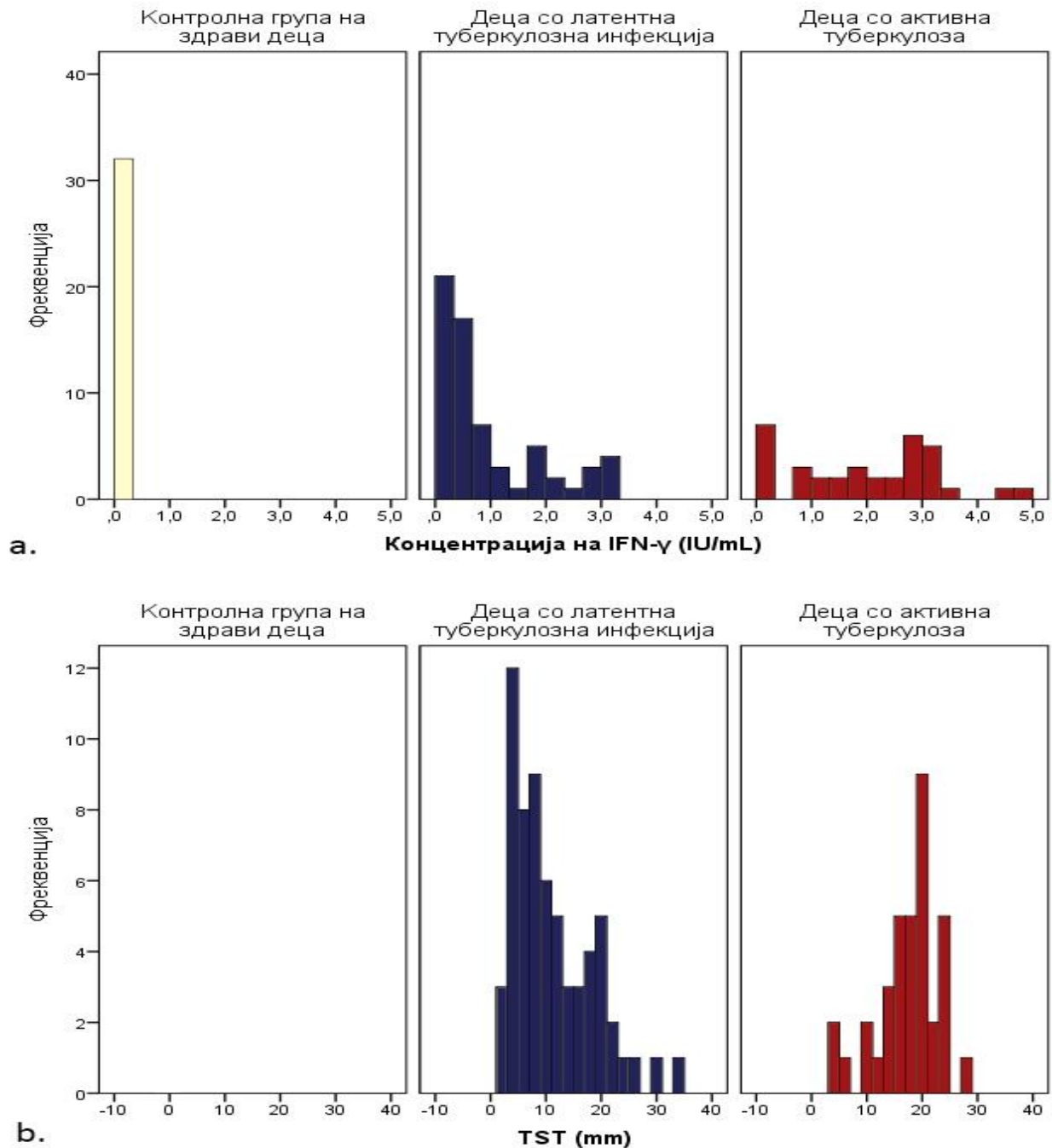
Во рамките на оваа докторска дисертација, резултатите беа обработени со стандардни статистички методи, ползувајќи го статистичкиот софтвер IBM SPSS Statistics® 23. Имено, од анализираните варијабли беше креирана база на податоци која беше систематски анализирана.

Анализата на квалитативните (дисконтинуирани, „категорични“) варијабли (пол, возрасна група, средина, присуство на BCG-белег, BCG-вакцина, IFN- γ наод, TST-наод, контакт со болен од активна туберкулоза, радиолошки промени на белите дробови, присуство на ARB во спутумот и култура според Löwenstein–Jensen) беше извршена преку таблица на контингенција. Имено, овие варијабли се прикажани преку фреквенцијата на испитаниците во одделните групи (проценти на структура), а разликата во распределбата на фреквенциите меѓу групите беше тестирана за сигнификантност преку χ^2 -вредноста.

Сите нумерички серии (т.е. квантитативните, континуирани величини: возраст, концентрација на IFN- γ (IU/mL) и дијаметар на индурација на TST (mm)) најпрвин беа тестирани за нормалност во дистрибуцијата на вредностите користејќи го Shapiro-Wilk тестот за нормалност (Shapiro и Wilk, 1965; Razali и Vah, 2011). Бидејќи сите континуирани варијабли покажаа сигнификантно отстапување на своите вредности од нормалноста (p-вредности поголеми од 0,05 за Shapiro-Wilk тестот, имено, отстапувањето од нормалноста може да се забележи и преку визуелна анализа на дистрибуциите, слика 10 и 11), за натамошните анализи е користена непараметарска статистика.



Слика 10: Хистограм на дистрибуција на вредностите за возраста во рамките на трите групи. Како што се забележува, овој параметар покажува отстапување од нормалната дистрибуција за секоја од групите, што наложува користење на непараметарска статистика во натамошните статистички анализи.



Слика 11: Хистограм на дистрибуција на вредностите за концентрацијата на IFN- γ (a.) и дијаметар на индурација за TST (b.) во рамките на трите групи. Како што се забележува и двата параметри покажуваат отстапување од нормалната дистрибуција за секоја од групите, што наложува користење на непараметарската статистика во натамошните статистички анализи.

Поради овие причини, за претставување на резултатите за наведените квантитативни величини користена е медијаната како мерка за централната тенденција на вредностите во рамките на групите, а како мерка за нивната дисперзија се земени интеркварталниот ранг (IQR) на податоците и целокупниот ранг (минимум – максимум). Резултатите за континуираните варијабли се претставени графички преку *boxplot*, каде што централната линија соодветствува на медијаната, а кутијата на IQR. За споредба на централните тенденции помеѓу групите беше користен непараметрискиот *Kruskal-Wallis* тест, проследен со последователните *U*-тестови на *Mann-Whitney*, притоа контролирајќи ја грешката тип I преку употреба на пристапот на *Bonferroni*.

Биваријантните статистички анализи беа извршени користејќи непараметриски корелации со *Spearman*-овиот ρ -коефициент.

Детерминацијата на граничните вредности, како и нивната сензитивност и специфичност за дискриминација помеѓу здравите контроли и децата со латентна туберкулозна инфекција, како и за дискриминацијата помеѓу децата со латентна туберкулозна инфекција и оние со активна туберкулоза, беше извршена преку анализа на кривите на *Receiver operating characteristic* (ROC). Притоа, како мерка за дискриминаторната моќ беше земена вредноста за површината под кривата (*Area Under the Curve*, AUC).

Во сите случаи, нивото на статистичка сигнификантност беше дефинирано на $p < 0,050$ (означено во графиконите со *), односно за висока сигнификантност $p < 0,001$ (**). Вредностите поголеми од $p > 0,05$ не се сметаат за статистички значајни (n.s. – non-significant). [48,49]

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1. Базични демографски карактеристики на испитаниците

Во оваа студија се анализирани вкупно 133 испитаници, од кои 33 здрави деца, 64 деца со латентна туберкулозна инфекција и 36 деца со активна туберкулоза. Нивните базични карактеристики се претставени низ наредните страници.

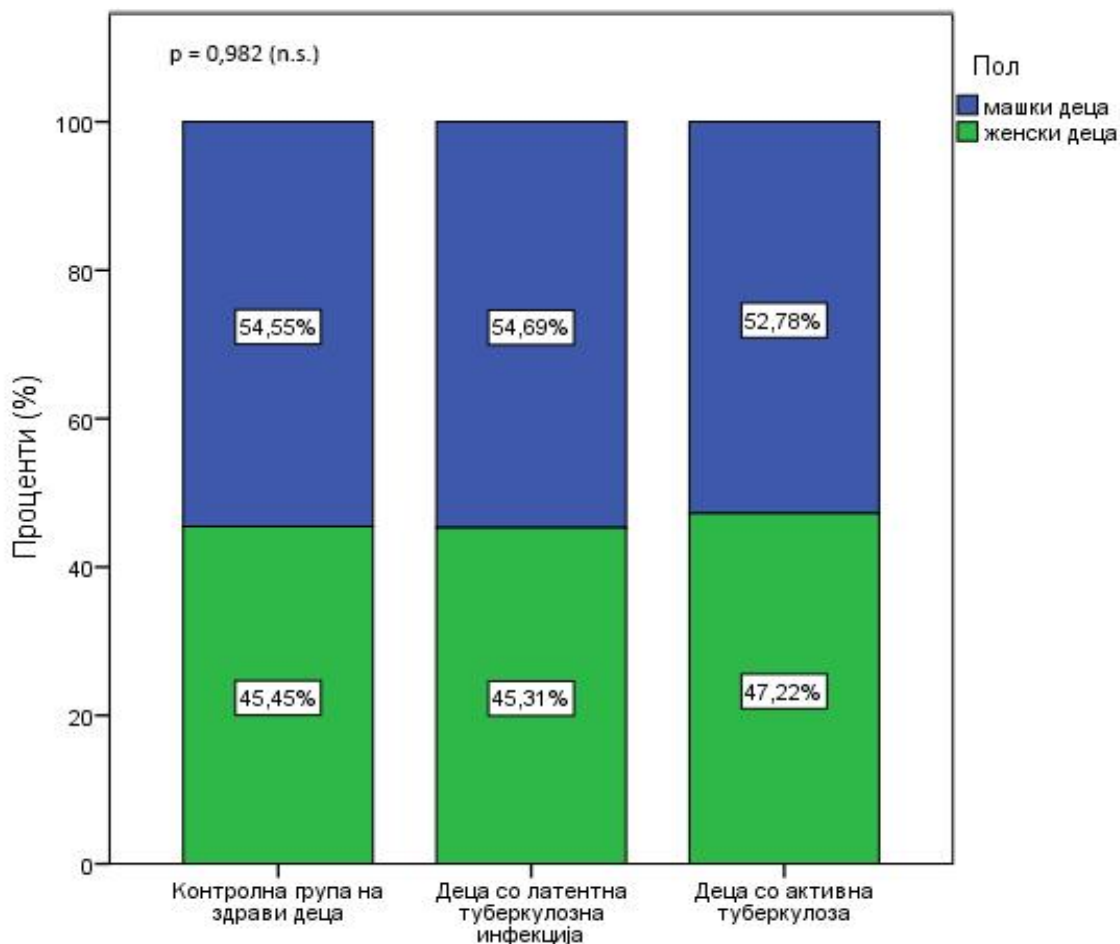
5.1.1 Полова структура

Резултатите околу половата структура се претставени во табелата 1.

Табела 1: Полова структура

Параметри	Контролна (n = 33)	ЛТБИ (n = 64)	активна ТБ (n = 36)	Сигнификантност
Пол				
Машки деца	54,5 %	54,7 %	52,8 %	$\chi^2 = 0,037$
Женски деца	45,5 %	45,3 %	47,2 %	p = 0,982 (n.s.)

Како што се забележува од табелата, не постои сигнификантна разлика во однос на половата дистрибуција меѓу трите групи, односно примерокот е балансиран, со приближно идентична фреквенција на машки и женски деца (близу 50 % - 50 %) за секоја од трите испитувани групи. Истото може попрецизно да се забележи на следнава слика (слика 12).



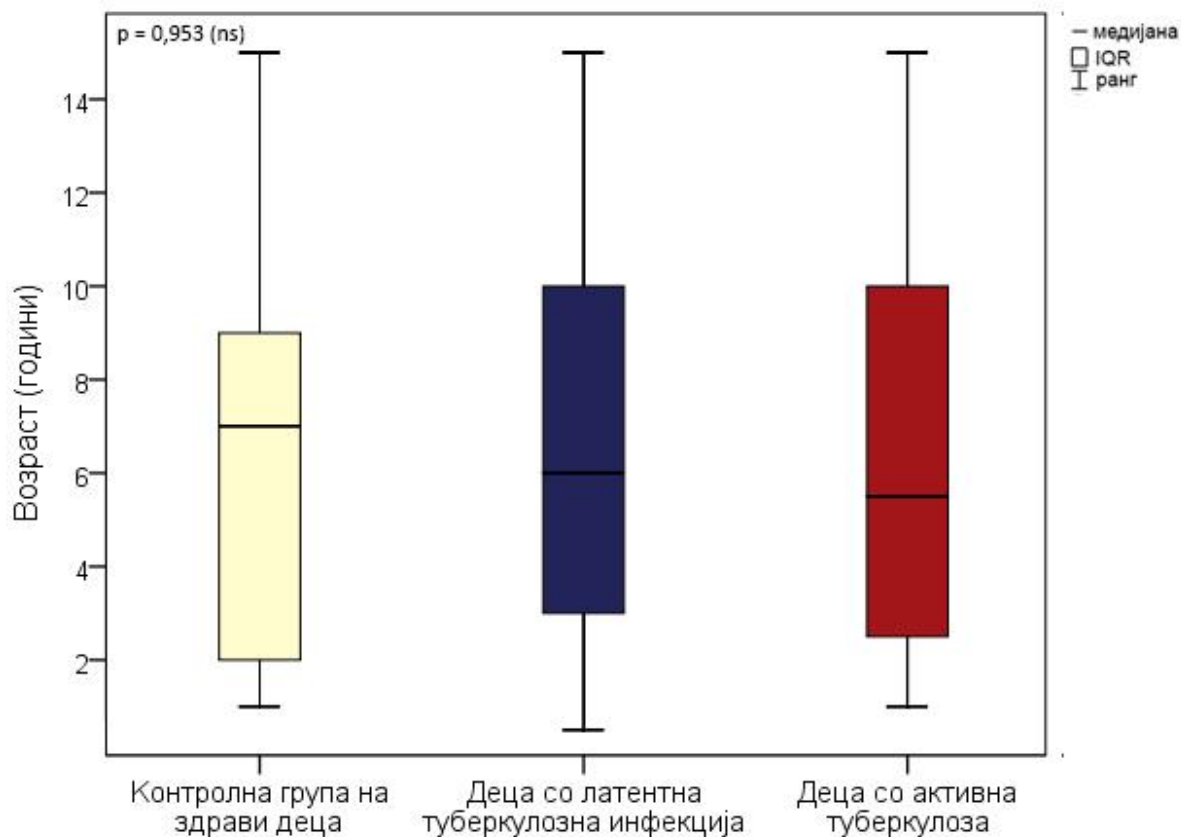
Слика 12: Полова дистрибуција. Примерокот е балансиран, со апроксимативно еднаква фреквенција на застапеноста на машки и женски деца меѓу трите групи ($\chi^2(2) = 0,037$; $p = 0,982$)

5.1.2. Возрасна структура

Во однос на возраста, во секоја од трите групи доминираа децата со возраст од околу 7-8 години, иако рангот на вредностите за возраста изнесуваше од 1 година до 15 години. Статистичките тестови потврдија дека не постои сигнификантна разлика во возраста на децата меѓу трите испитувани групи (табела 2, слика 13).

Табела 2: Споредба на возраста на испитаниците од трите групи

Параметри	Контролна (n = 33)	ЛТБИ (n = 64)	Активна ТБ (n = 36)	Сигнификантност
Возраст	7 (IQR = 8) (ранг 1 – 15)	6 (IQR = 7) (ранг 1 – 15)	5,5 (IQR = 8) (ранг 1 – 15)	$F = 0,096$ $P = 0,953$ (n.s.)

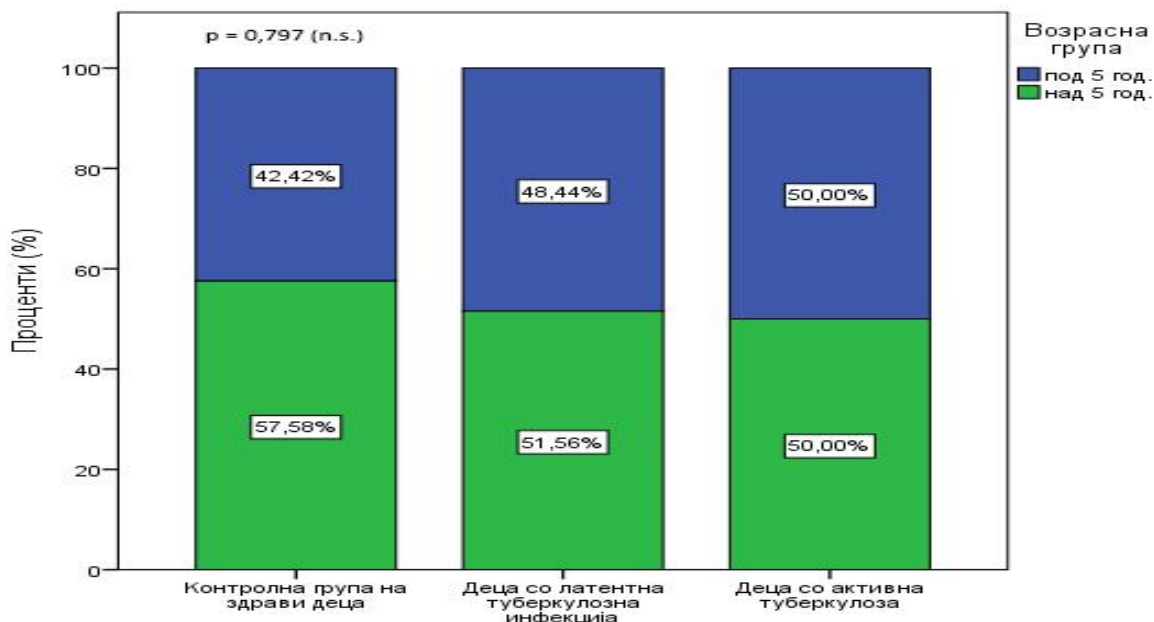


Слика 13: Споредба на возраста на испитаниците меѓу трите групи. Не постои сигнификантна разлика во возраста меѓу испитаниците од трите групи (Kruskal-Wallis $F = 0,096$; $p = 0,953$)

Испитаниците, исто така беа поделени во две возрасни групи: деца под 5 години и деца над 5 години. Статистичките тестови покажаа дека постои апроксимативно еднаква фреквенција на застапеноста на овие две возрасни групи за секоја од трите анализирани групи (табела 3, слика 14).

Табела 3: Возрасна структура

Параметри	Контролна (n = 33)	ЛТБИ (n = 64)	Активна ТБ (n = 36)	Сигнификантност
Возрасна група				
Под 5 год.	42,4 %	48,4 %	50,0 %	$\chi^2 = 0,453$
Над 5 год.	57,6 %	51,6 %	50,0 %	p = 0,797 (n.s.)



Слика 14: Возрасна структура. Примерокот е балансиран, со апроксимативно еднаква фреквенција на застапеноста на деца под и над 5 години меѓу трите групи ($\chi^2 (2) = 0,453$, p = 0,797)

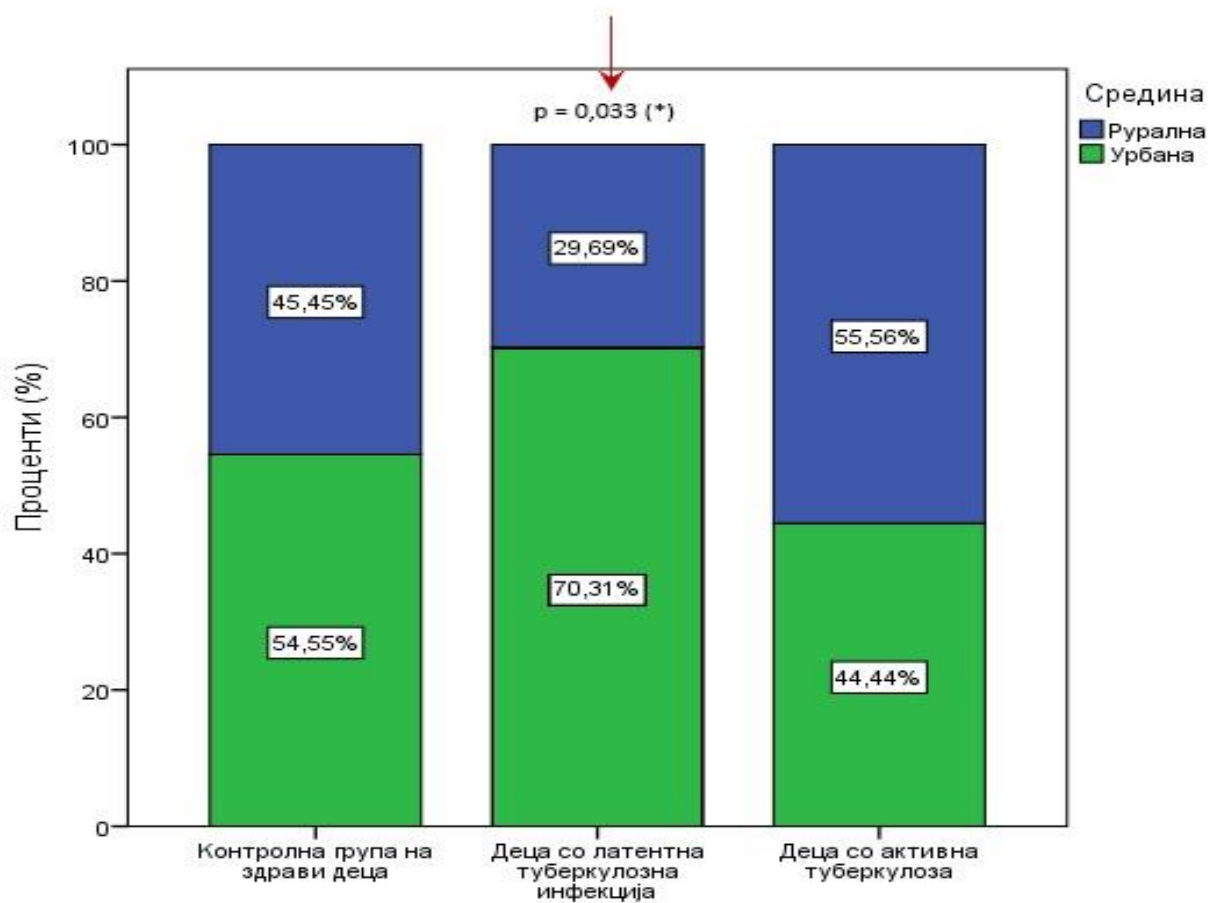
5.1.3. Средина од која потекнуваат испитаниците

Во однос на средината во која живеат децата, нашите статистички анализи покажаа дека постои сигнификантно повисока фреквенција на деца со латентна туберкулозна инфекција кај децата кои потекнуваат од урбана средина, во однос на оние од руралните средини (табела 4, слика 15). Овој резултат укажува дека можеби урбаната средина носи поголем ризик за туберкулозна инфекција кај децата, во однос на руралната средина.

Табела 4: Средина од која потекнуваат испитаниците

Параметри	Контролна (n = 33)	ЛТБИ (n = 64)	Активна ТБ (n = 36)	Сигнификантност
Средина				
Рурална	45,5 %	29,7 %	55,6 %	$\chi^2 = 6,821$ $p = 0,033 (*)$
Урбана	54,5 %	70,3 %	44,4 %	

* $p < 0,05$.



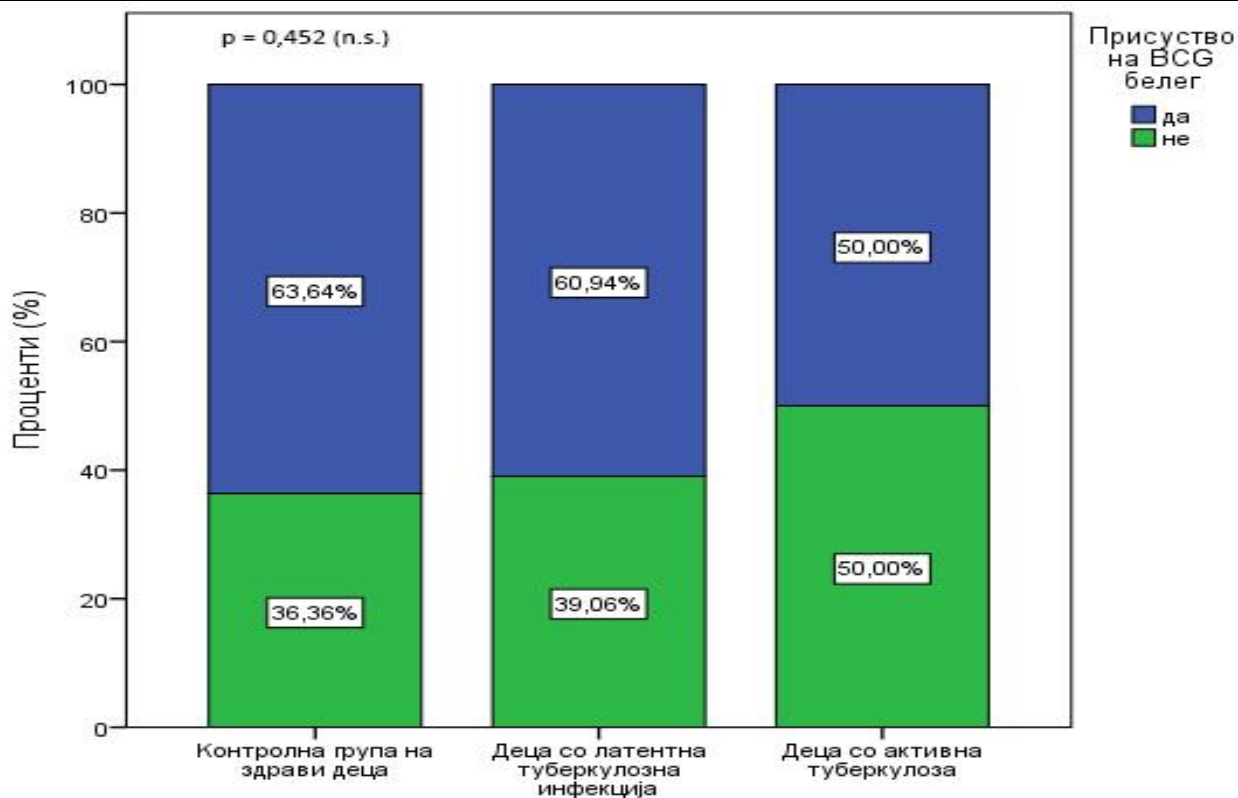
Слика 15: Постои сигнификантно повисока фреквенција на деца со латентна туберкулозна инфекција од урбаната средина, во однос на руралната средина (* $p < 0,05$)

5.1.4. Присуство на BCG-белег и BCG-вакцина

Во однос на присуството на BCG-белег, статистичките тестови покажаа дека постои апроксимативно еднаква фреквенција на неговата застапеност меѓу трите групи (табела 5, слика 16).

Табела 5: Присуство на BCG-белег

Параметри	Контролна (n = 33)	ЛТБИ (n = 64)	Активна ТБ (n = 36)	Сигнификантност
Присуство на BCG-белег				
Да	63,6 %	60,9 %	50,0 %	$\chi^2 = 1,587$ $p = 0,452$ (n.s.)
Не	36,4 %	39,1 %	50,0 %	



Слика 16: Присуството на BCG-белег. Примерокот е балансиран, со апроксимативно еднаква фреквенција на застапеноста на белегот меѓу трите групи (χ^2 (2) = 1,587, $p = 0,452$).

Важно е да се напомене дека сите 133 испитаници имаа примено BCG-вакцина.

5.2. Специфични карактеристики на болните испитаници и децата со латентна туберкулозна инфекција

Низ следните страници се прикажани одредени карактеристики на болните деца и децата со латентна туберкулозна инфекција кои беа предмет на интерес на оваа докторска дисертација.

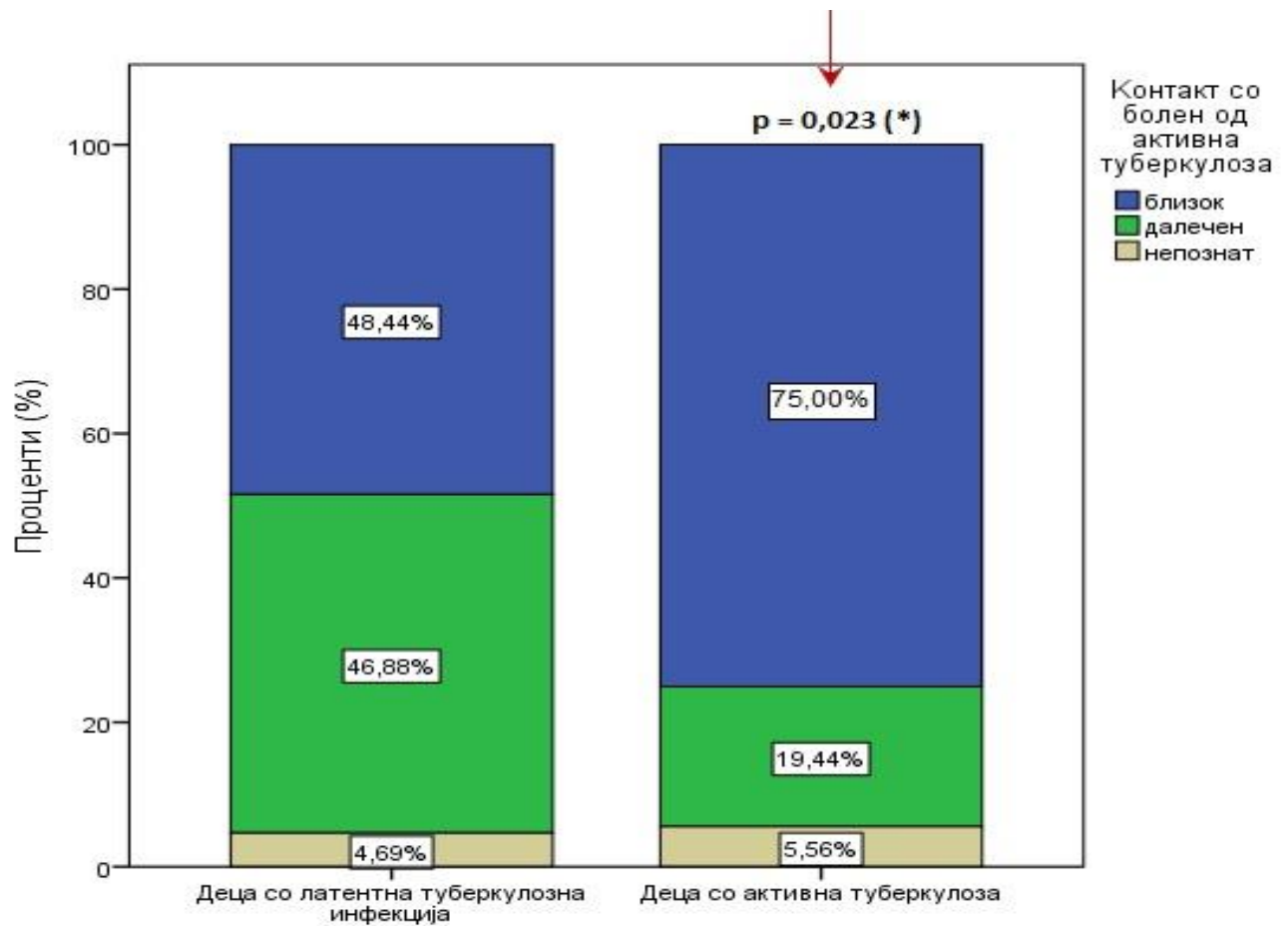
5.2.1. Контакт со болен од активна туберкулоза

Најпрвин, ја проследивме фреквенцијата на испитаници во однос на контактот со болен од активна туберкулоза. Нашите статистички анализи покажаа дека кај децата со активна туберкулоза постои поголема застапеност на блискиот контакт со болен, во однос на оние со латентна туберкулоза (табела 6 и слика 17).

Табела 6: Контакт со болен од активна туберкулоза

Параметри	ЛТБИ (n = 64)	АктивнаТБ (n = 36)	Сигнификантност
Контакт со болен од активна ТБЦ			
Близок	48,4 %	75,0 %	$\chi^2 = 7,523$ $p = 0,023 (*)$
Далечен	46,9 %	19,4 %	
Непознат	4,7 %	5,6 %	

* $p < 0,05$;



Слика 17: Постои статистички сигнификантно повисока фреквенција на децата што имале близок контакт кај активната туберкулоза, во однос на испитаниците со латентна туберкулозна инфекција (* $p < 0,05$)

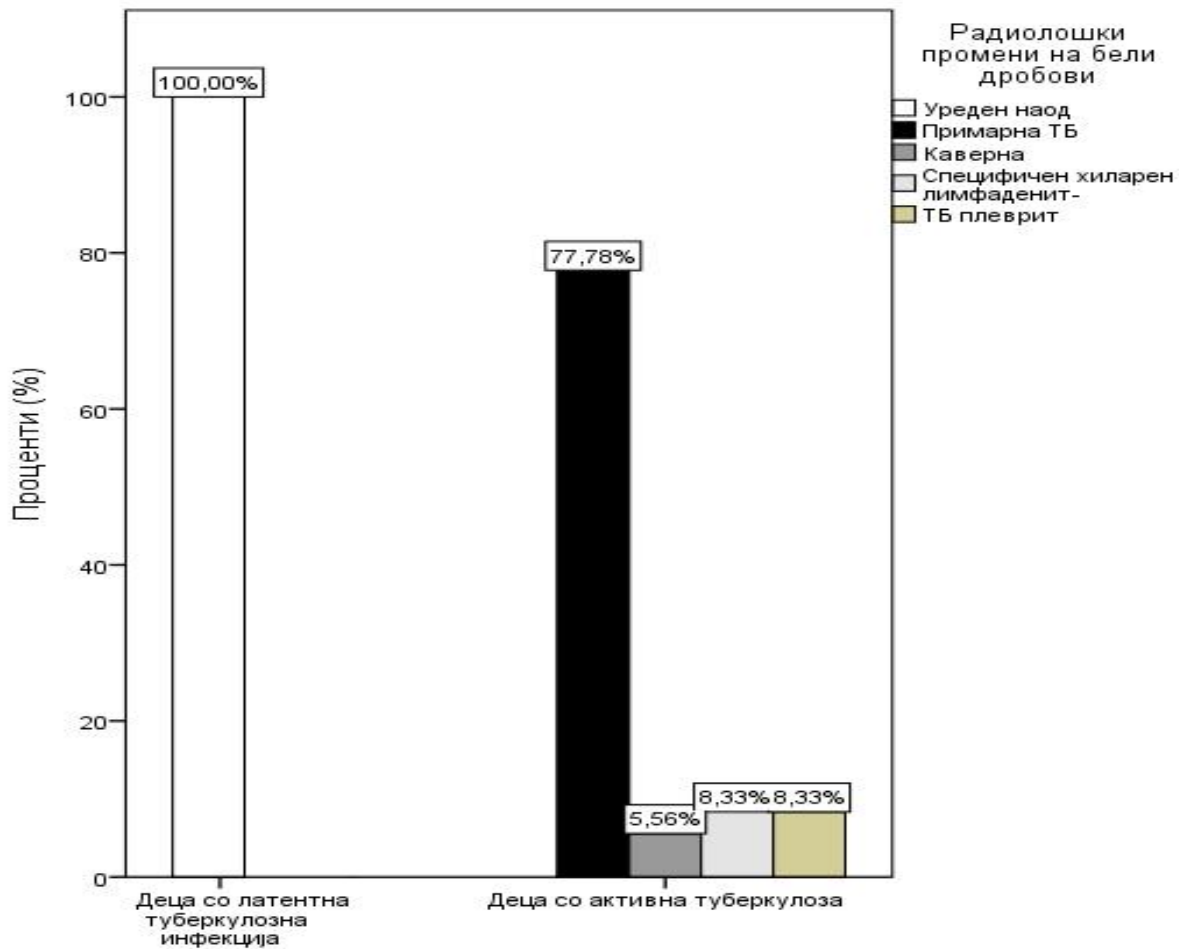
5.2.2. Радиолошки промени на белите дробови

Во однос на извршените радиолошки анализи, од табелата 7 се забележува дека кај сите испитаници со латентна туберкулозна инфекција беше откриен уреден наод, додека пак кај сите деца со активна туберкулоза беа откриени радиолошки промени на белите дробови од кои доминира примарната туберкулоза (табела 7 и слика 18).

Табела 7: Радиолошки промени на белите дробови

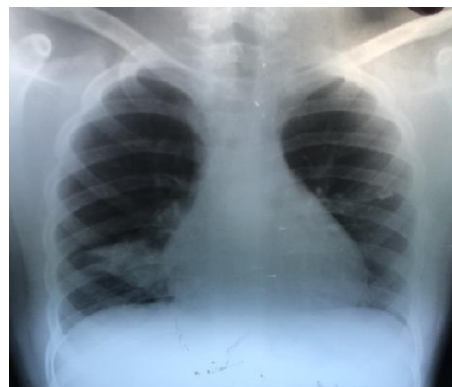
Параметри	ЛТБИ (n = 64)	Активна ТБ (n = 36)	Сигнификантност
РТГ на белите дробови			
Уреден наод	100,0 %	0,0 %	
ТБ плеврит	0,0 %	8,3 %	
Примарна ТБ	0,0 %	77,8 %	
Каверна	0,0 %	5,6 %	
Специфичен хиларен лимфаденит	0,0 %	8,3 %	$\chi^2 = 100,000$ $p = 9,87 \cdot 10^{-21} (**)$

**p < 0,001.

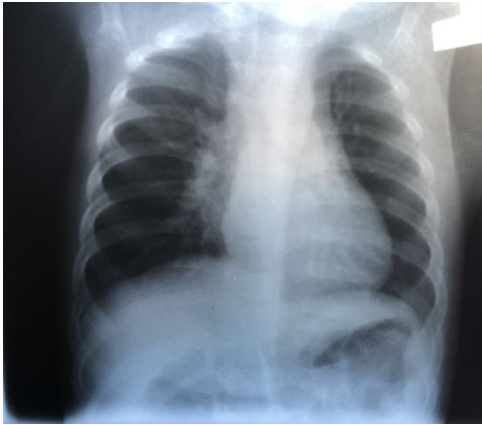


Слика18: Радиолошки промени на белите дробови. Кај децата со латентна туберкулозна инфекција, апсолутно доминира уредниот наод (100 %), додека пак кај испитаниците со активна туберкулоза доминира примарната туберкулоза (77,78 %).

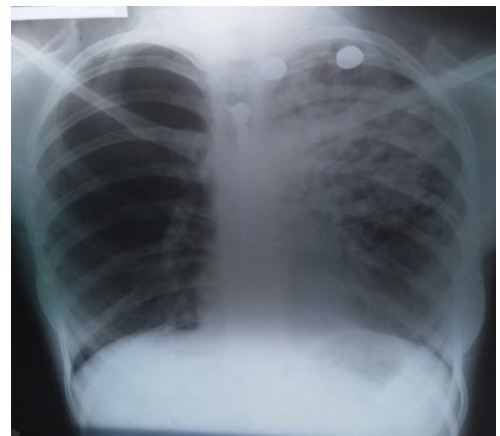
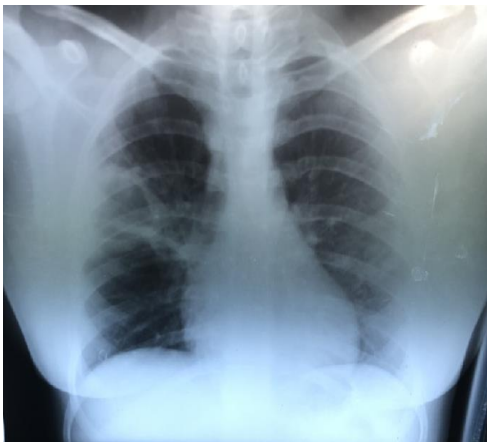
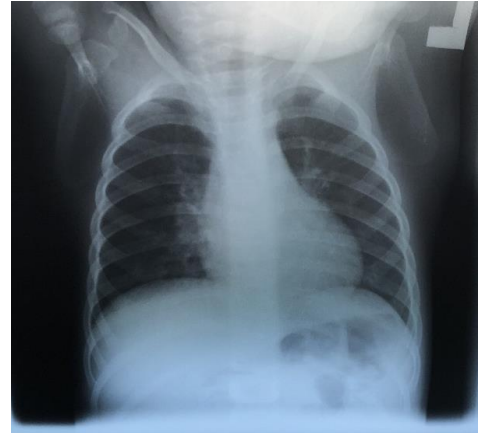
На следните неколку слики се прикажани радиолошки наоди од нашите испитаници со активна ТБЦ.



Слика 19: Примарна белодробна туберкулоза



Слика 20: Хиларен лимфаденитис



Слика 21: Казеокавернозна форма на белодробна ТБЦ



Слика 22: Туберкулозен плеврален излив

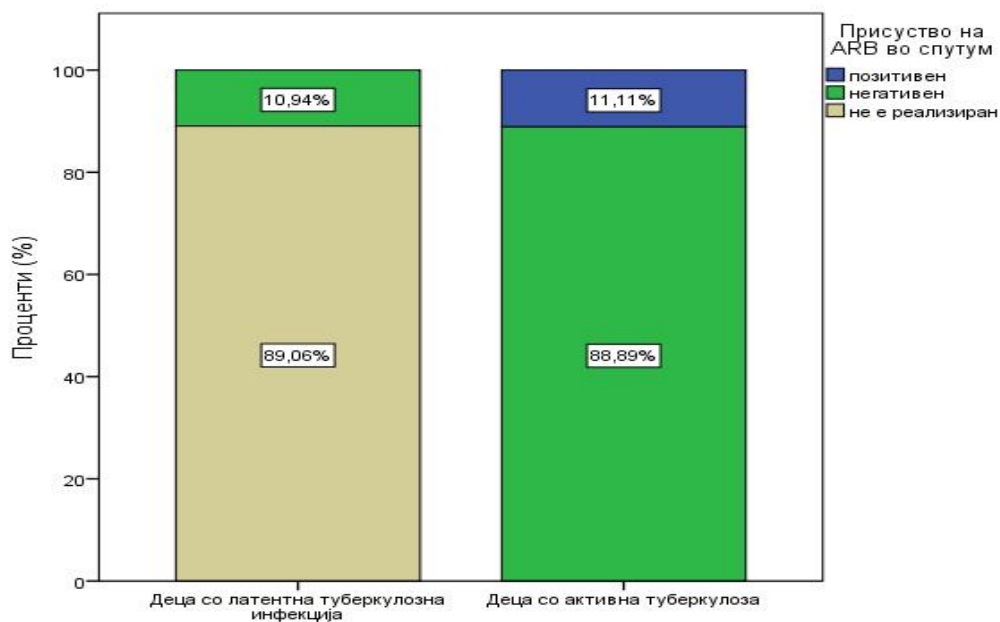
5.2.3. Присуство на ARB во спутумот

Во однос на присуството на ARB во спутумот, кај најголем дел од децата со латентна туберкулоза, анализата не беше извршена, додека пак кај испитаниците со активна туберкулоза, кај 11,1 % беше добиен позитивен наод (табела 8 и слика 23).

Табела 8: Присуство на ARB во спутумот

Параметри	ЛТБИ (n = 64)	Активна ТБ (n = 36)	Сигнификантност
Присуство на ARB во спутумот			
Позитивен наод	0,0 %	11,1 %	$\chi^2 = 75,071$ $p = 4,99 \cdot 10^{-17} (**)$
Негативен наод	10,9 %	88,9 %	
Не е реализиран	89,1 %	0,0 %	

**p < 0,001.



Слика 23: Присуство на ARB во спутумот кај децата со латентна туберкулозна инфекција и кај испитаниците со активна туберкулоза

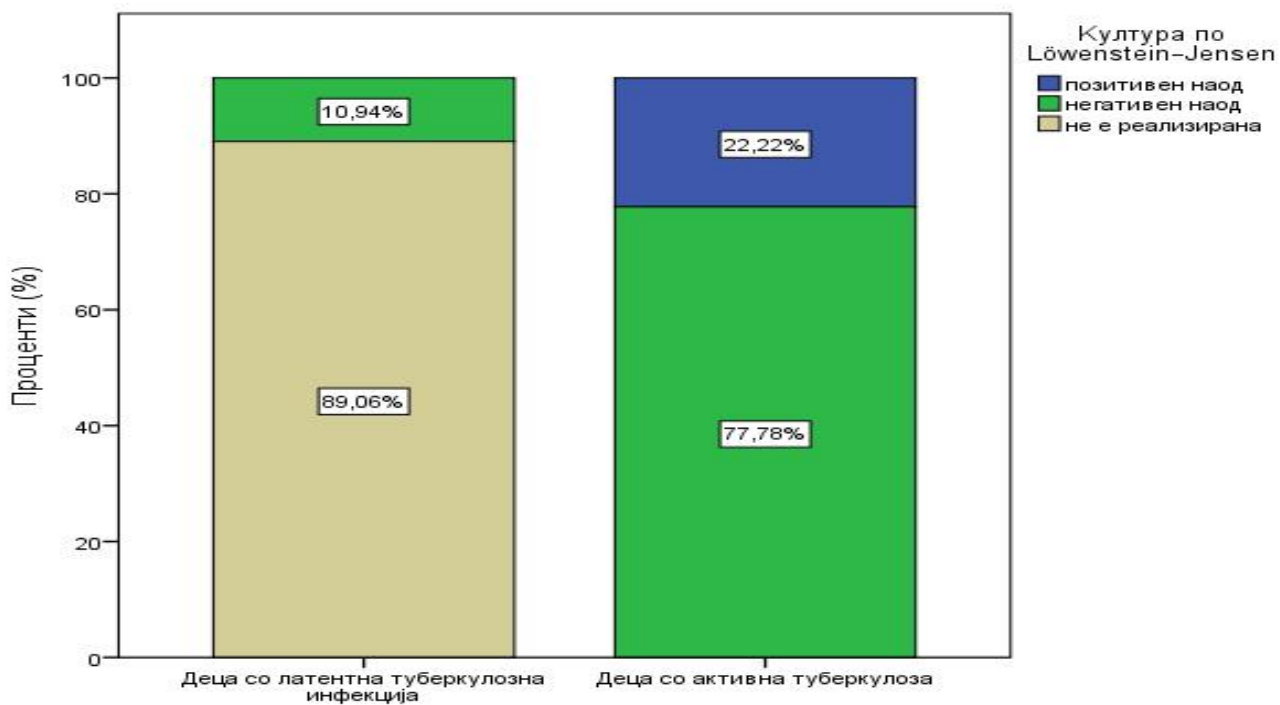
5.2.4. Култура според Левенштајн-Јенсен

Во однос на добиените резултати од културата според Левенштајн-Јенсен, кај најголем дел од децата со латентна туберкулоза анализата не беше извршена, додека пак кај испитаниците со активна туберкулоза, културата беше позитивна кај 22,2 % (табела 9 и слика 24).

Табела 9: Култура според Левенштајн-Јенсен

Параметри	ЛТБИ (n = 64)	Активна ТБ (n = 36)	Сигнификантност
Култура според Левенштајн-Јенсен			
Позитивен наод	0,0 %	22,2 %	$\chi^2 = 75,694$ $p = 3,66 \cdot 10^{-17} (**)$
Негативен наод	10,9 %	77,8 %	
Не е реализиран	89,1 %	0,0 %	

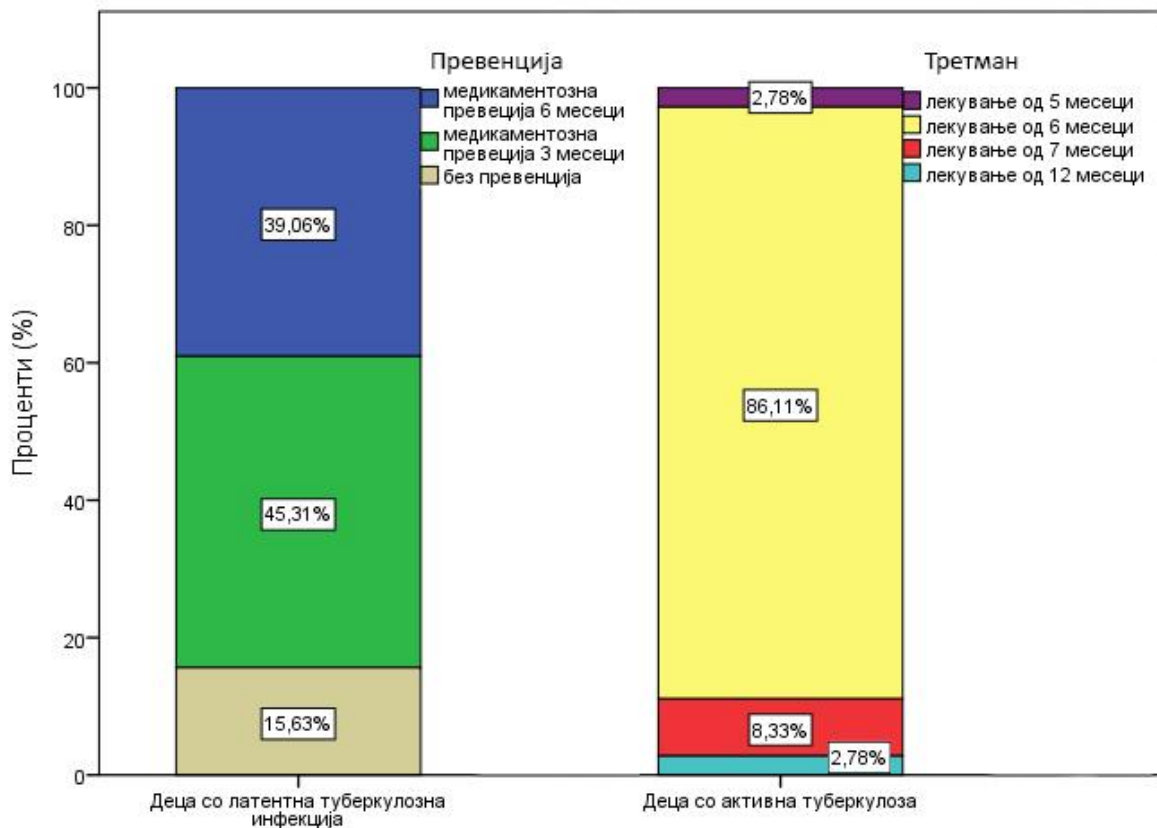
**p < 0,001.



Слика 24: Резултати од културата според Левенштајн-Јенсен кај децата со ЛТБИ и активна ТБЦ

5.2.5. Медикаментозна превенција и лекување

Во овој дел, исто така треба да се напомене дека најголем дел од децата со латентна туберкулозна инфекција беа третирани превентивно, и тоа 39,1 % во период од 6 месеци и 45,3 % во период од 3 месеци, а додека 15,6 % не беа третирани превентивно. Во однос на децата со активна туберкулоза, тие беа третирани соодветно, и тоа најголем дел во период од 6 месеци (86,1 %), додека 8,3 % беа лекувани во период од 7 месеци, 2,8 % во период од 12 месеци и 2,8 % во период од 5 месеци (слика 25).



Слика 25: Времетраење на медикаментозната превенција кај децата со латентна туберкулозна инфекција и времетраење на терапијата кај децата со активна туберкулоза

5.3. Примена на Quantiferon TB gold тестот во дијагнозата на активна ТБЦ и ЛТБИ во детската возраст

5.3.1. Споредба на нивоата на IFN- γ (IU/mL) меѓу децата со активна туберкулоза, децата со латентна туберкулозна инфекција и контролната група здрави деца

Како што беше спомнато во делот за статистичка обработка, бидејќи вредностите за IFN- γ (IU/mL) отстапуваат сигнификантно од нормалната дистрибуција (Shapiro Wilk тест $p > 0,05$; хистограмот на дистрибуција е претставен на слика 11a), резултатите за оваа варијабла беа обработени ползувајќи непараметарска статистика и се соодветно претставени преку boxplot-ови.

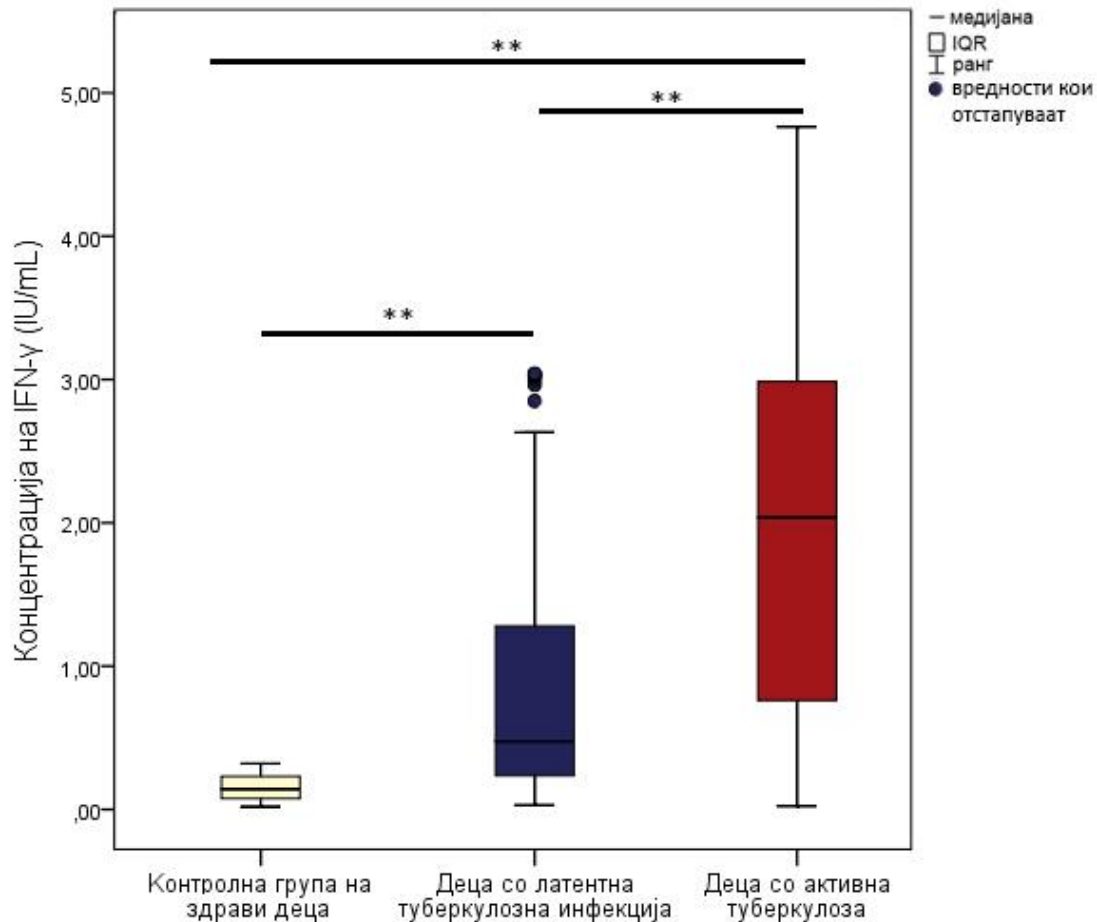
Вредностите за IFN- γ (IU/mL) меѓу трите групи се претставени најпрвин на следнава табела (табела 10).

Табела 10: Споредба на нивоата на IFN- γ (IU/mL) меѓу децата со активна туберкулоза, децата со латентна туберкулозна инфекција и контролната група здрави деца

Параметар	Контролна група (n = 33)	ЛТБИ (n = 64)	Активна ТБ (n = 36)	Сигнификантност
Концентрација на IFN- γ (IU/mL)	<u>0,141</u> (IQR = 0,159) (ранг 0,018 – 0,321)	<u>0,475</u> (IQR = 1,082) (ранг 0,030 – 3,042)	<u>2,037</u> (IQR = 2,246) (ранг 0,024 – 4,764)	Kruskal-Wallis тест: $F = 46,042$ $p = 1,00 \cdot 10^{-10}$ (**)

Како што се забележува, Kruskal-Wallis тестот покажа дека постојат статистички високо сигнификантни разлики во нивоата на IFN- γ (IU/mL) меѓу испитаниците од трите групи (** $p = 1,00 \cdot 10^{-10}$). Последователните Mann-Whitney тестови потврдија дека децата со латентна туберкулозна инфекција имаат сигнификантно повисоки вредности на IFN- γ во однос на здравите контроли ($U = 368,0$; ** $p = 1,62 \cdot 10^{-7}$). Исто така, беше покажано дека децата со активна туберкулоза имаат сигнификантно повисоки вредности на IFN- γ во однос на здравите контроли ($U = 116,5$; ** $p = 9,68 \cdot 10^{-9}$). Последно, беа забележани и

статистички сигнификантни разлики меѓу децата со латентна туберкулозна инфекција и децата со активна туберкулоза ($U = 649,5$; $**p = 0,0003$). Резултатите се прикажани графички на сликата 26.

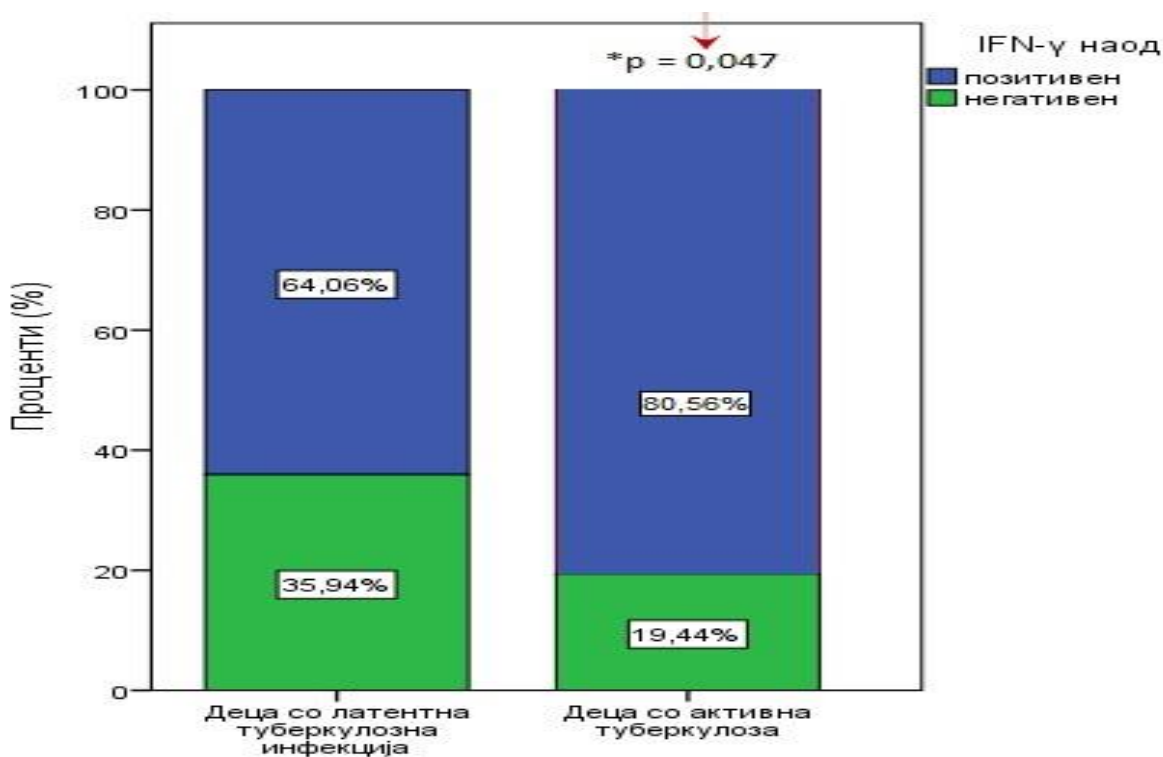


Слика 26: Споредба на вредностите за IFN- γ (IU/mL) меѓу контролната група на здрави деца и испитаниците со латентна туберкулозна инфекција и активна туберкулоза. И двете испитувани групи (деца со латентна туберкулозна инфекција и деца со активна туберкулоза) имаат сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ во однос на здравите контроли. Исто така, беше покажано и дека децата со активна туберкулоза имаат сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ во однос на оние со латентна туберкулозна инфекција. $**p < 0,001$.

Бидејќи статистичките тестови покажаа дека трите групи се разликуваат меѓусебно во однос на нивоата на IFN- γ , ова води кон претпоставката дека трите групи можат да се

дискриминираат врз база на вредностите за IFN- γ , за што ќе стане збор малку подоцна (во делот за детерминација на граничните вредности).

Врз база на препораките од литературата, испитаниците, исто така беа поделени на деца со позитивен наод ($\geq 0,35$ IU/mL) и негативен наод за IFN- γ ($< 0,35$ IU/mL). По групирањето на испитаниците според вредностите за IFN- γ , исто така се покажа сигнификантно повисока фреквенција на испитаниците со позитивен наод кај активната туберкулоза (80,6 %), во однос на децата со латентна туберкулоза (64,1 %) ; $\chi^2 = 3,984$, *p = 0,047, слика 27.



Слика 27: Постои сигнификантно повисока фреквенција на испитаници со позитивен наод кај активната туберкулоза, во однос на децата со латентна туберкулоза (*p < 0,05)

5.3.2. Сензитивност и специфичност на IFN- γ (IU/mL)

Сензитивноста и специфичноста на позитивниот наод за IFN- γ беше тестирана одделно за латентната туберкулозна инфекција и за активната туберкулоза.

Резултатите што се однесуваат за сензитивноста и специфичноста на IFN- γ за откривање на латентната туберкулозна инфекција, врз база на поставената гранична вредност од 0,35 IU/mL се прикажани на следнава табела (табела 11).

Табела 11: Сензитивност и специфичност на IFN- γ за откривање на латентната туберкулозна инфекција

IFN- γ тест	Контролна група	ЛТБИ
Позитивен наод	0 %	64 %
Негативен наод	100 %	36 %

Врз основа на добиените резултати, IFN- γ тестот за дадената гранична вредност од 0,35 IU/mL има 64 % сензитивност и 100 % специфичност за детекција на латентната туберкулозна инфекција, притоа оставајќи 36 % лажно негативни наоди.

Резултатите што се однесуваат за сензитивноста и специфичноста на IFN- γ за откривање на активната туберкулоза, врз база на поставената гранична вредност од 0,35 IU/mL се прикажани на следнава табела (табела 12).

Табела 12: Сензитивност и специфичност на IFN- γ за откривање на активната туберкулоза

IFN- γ тест	Контролна група	Активна ТБ
Позитивен наод	0 %	80,6 %
Негативен наод	100 %	19,4 %

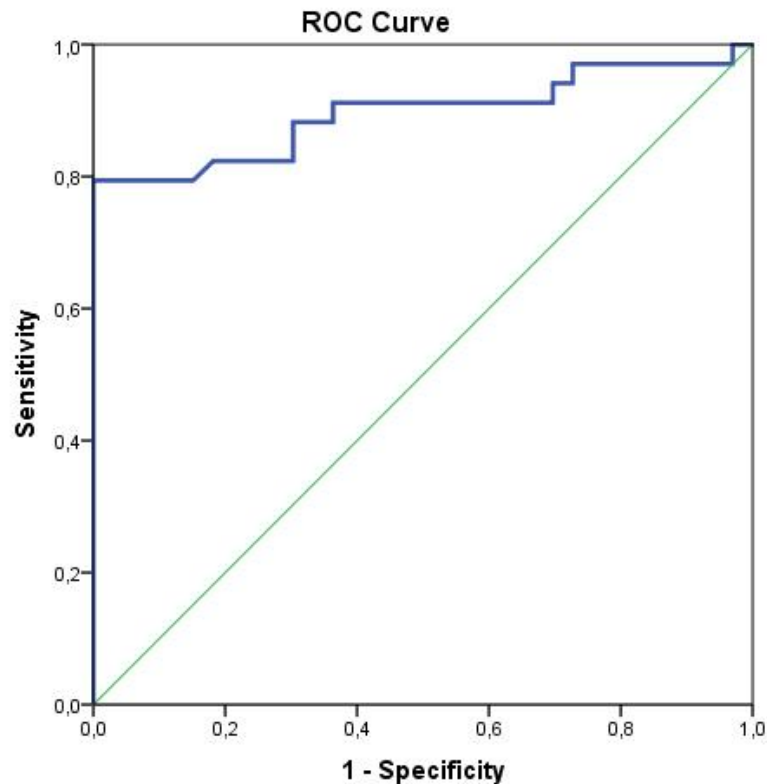
Врз основа на добиените резултати, IFN- γ тестот за дадената гранична вредност од 0,35 IU/mL има 80,6 % сензитивност и 100 % специфичност за откривање на активна туберкулозна , притоа оставајќи 19,4 % лажно негативни наоди.

5.3.3. Детерминација на граничните (cutoff) дијагностички вредности на концентрацијата на IFN- γ (IU/mL) за децата со латентна туберкулозна инфекција и активна туберкулоза во Македонија

Во овој дел е извршена анализа за предлагање на нова гранична дијагностичка вредност на концентрацијата на IFN- γ (IU/mL) за децата со латентна туберкулозна инфекција и активна туберкулоза кои се однесуваат на испитаниците за Република Македонија.

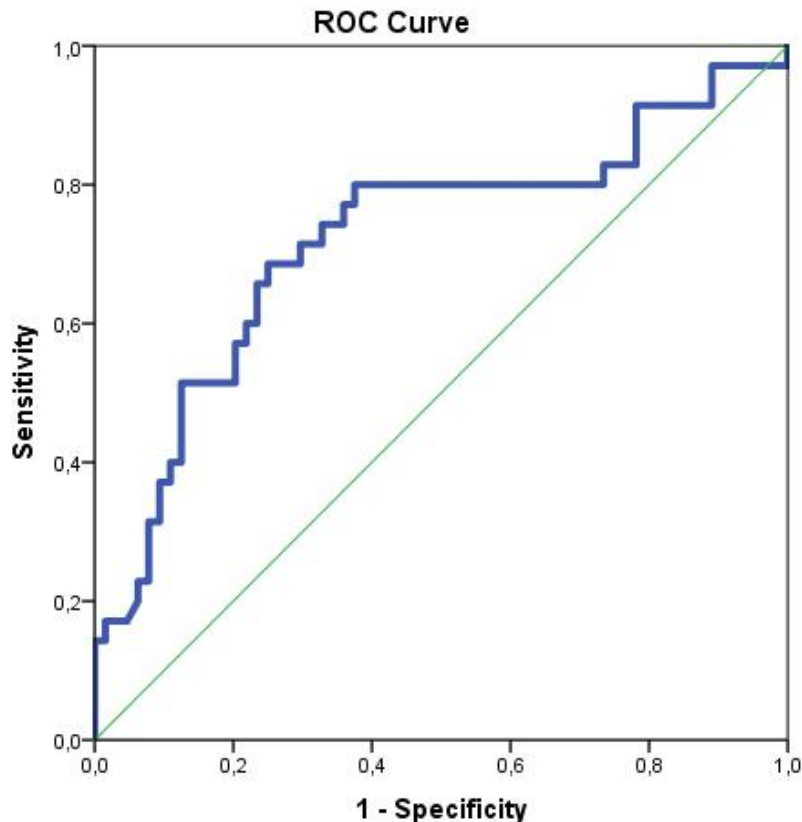
Како што беше назначено во делот за статистичката анализа, детерминацијата на граничните вредностите за IFN- γ , како и нивната сензитивност и специфичност за дискриминација меѓу здравите контроли и децата со латентна туберкулозна инфекција, како и за дискриминација помеѓу децата со латентна туберкулозна инфекција и оние со активна туберкулоза, беше извршена преку анализа на кривите на *Receiver operating characteristic* (ROC). Притоа, како мерка за дискриминаторната моќ беше земена вредноста за површината под кривата (Area Under the Curve, AUC).

Нашите анализи покажаа дека вредноста од $\geq 0,252$ IU/mL IFN- γ е оптимална за дискриминација помеѓу здравите контроли и децата со латентна туберкулозна инфекција, со 82,4 % сензитивност и 81,8 % специфичност за детекција на латентната туберкулозна инфекција, притоа оставајќи 17,6 % лажно негативни и 18,2 % лажно позитивни наоди (ROC AUC = 0,896, ***p = $2,48 \cdot 10^{-8}$). Вредностите за AUC укажуваат на висока дискриминаторна моќ, со висок степен на сигнификантност. ROC-анализата е претставена на следната слика (слика 28).



Слика 28: ROC-анализа за детерминација на граничните дијагностички вредности на концентрацијата на IFN- γ (IU/mL) за децата со латентна туберкулозна инфекција

Исто така, беше извршена и втора анализа која пак покажа дека вредноста од $\geq 0,822$ IU/mL IFN- γ е оптимална за дискриминација помеѓу децата со латентна туберкулозна инфекција и оние со активна туберкулоза, со 74,3 % сензитивност и 67,2 % специфичност за детекција на активната туберкулоза, притоа оставајќи 25,7 % лажно негативни и 32,8 % лажно позитивни наоди (ROC AUC = 0,722, ***p = 0,0003). Вредностите за AUC укажуваат на пониска дискриминаторна моќ во однос на претходната детерминирана гранична вредност (за откривање на латентната туберкулоза, во однос на здравите деца), но, исто така, со висок степен на сигнификантност. Причината за ова е фактот што, иако со помала фреквенција, и кај децата со латентна туберкулозна инфекција можат да се јават вредности повисоки од 2,5 IU/mL (во нашиот случај кај 7 индивидуи од 64 анализирани деца). ROC-анализата е претставена на следната слика (слика 29).



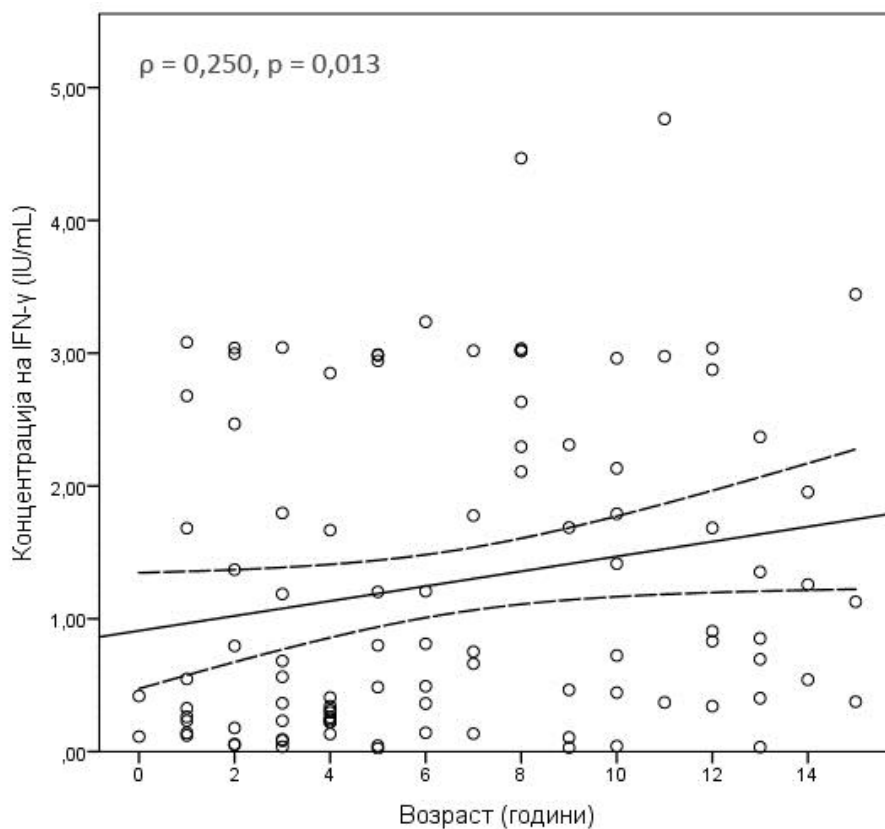
Слика 29: ROC-анализа за детерминација на граничните дијагностички вредности на концентрацијата на IFN- γ (IU/mL) за децата со активна туберкулоза, во однос на оние со латентна туберкулозна инфекција

Се забележува помала површина под кривата (сината линија) во однос на претходната анализа, како и благо плато на специфичноста, што укажува на фактот дека детерминираната вредност има помала специфичност за откривање на активната туберкулоза и веројатност за појава на лажно позитивни вредности. Тоа се должи на фактот што, иако со помала фреквенција и кај децата со латентна туберкулозна инфекција можат да се јават повисоки вредности на IFN- γ . Врз основа на анализата, вредноста од $\geq 0,822$ IU/mL IFN- γ беше проценета како оптимална за дискриминација помеѓу децата со латентна туберкулозна инфекција и оние со активна туберкулоза, со 74,3 % сензитивност и 67,2 % специфичност (25,7 % лажно негативни и 32,8 % лажно позитивни наоди).

5.3.4. Влијание на возраста на концентрацијата на *IFN- γ* (IU/mL)

Во овој дел го испитавме влијанието на возраста врз концентрацијата на *IFN- γ* (IU/mL) кај децата со латентна туберкулозна инфекција и кај оние со активна туберкулоза.

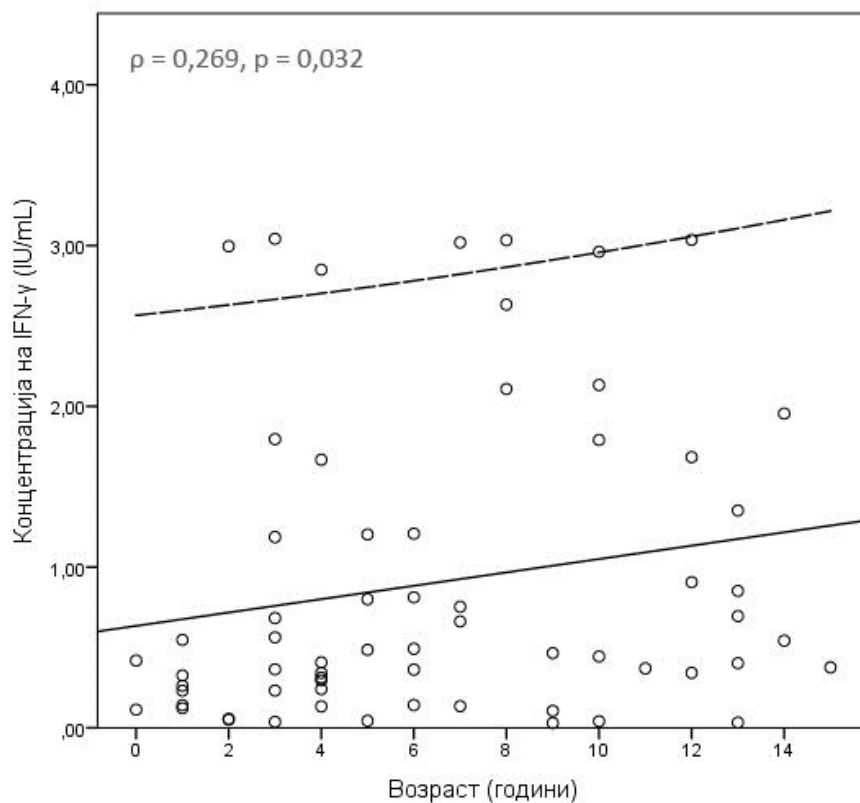
Сумарно, имајќи ги предвид двете групи заедно (децата со латентна туберкулозна инфекција и децата со активна туберкулоза), беше забележана слаба, но статистички значајна (* $p = 0,013$) и позитивна корелација помеѓу возраста и концентрацијата на *IFN- γ* (Spearman $\rho = 0,250$). Коефициентот на корелација има ниска вредност, што укажува на многу слаб позитивен тренд меѓу двете варијабли, односно, слаб тренд повозрасните деца да имаат повисоки вредности на *IFN- γ* (слика 30).



Слика 30: Влијание на возраста врз концентрацијата на *IFN- γ* (IU/mL)

Анализата е извршена имајќи ги предвид двете групи заедно (деца со латентна туберкулозна инфекција и деца со активна туберкулоза, $n = 100$ испитаници). Се забележува мошне слаб тренд за позитивна корелација (означена со права линија; испрекинатите линии означуваат 95 % интервал на доверба).

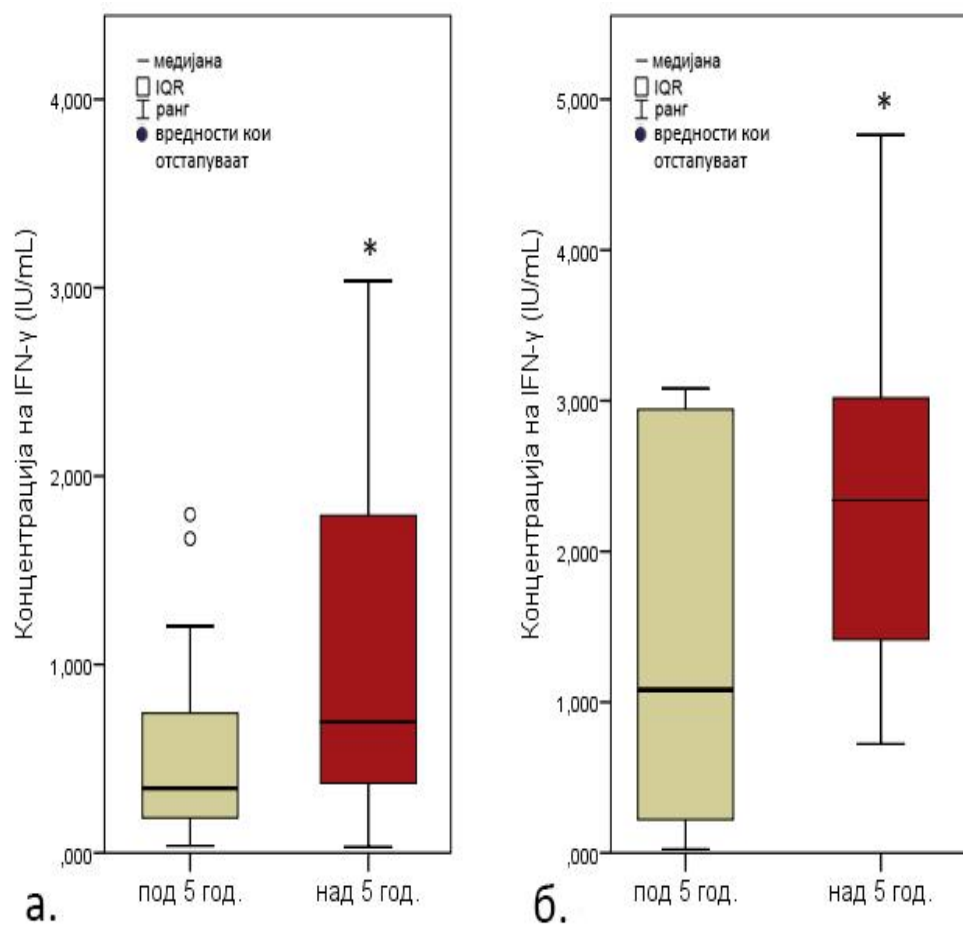
Натамошните биваријантни статистички анализи покажаа дека постои слаба, но позитивна корелација помеѓу возраста и концентрацијата на IFN- γ (IU/mL) само кај децата со латентна туберкулозна инфекција (Spearman $\rho = 0,269$, $*p = 0,032$), додека пак истата комплетно отсуствува во групата деца со активна туберкулоза ($p = 0,268$, n.s.), (слика 31).



Слика 31: Влијанието на возраста врз концентрацијата на IFN- γ (IU/mL) кај децата со латентна туберкулозна инфекција ($n = 64$ испитаници)

Се забележува мошне слаб тренд за позитивна корелација (означена со права линија; испрекинатите линии означуваат 95 % интервал на доверба).

Во овој дел, исто така беше извршена и анализа на нивоата на IFN- γ (IU/mL) меѓу двете возрастни групи (деца под 5 години и деца над 5 години). Притоа забележавме дека во рамките на испитаниците со латентна туберкулозна инфекција, децата над 5 години имаат сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ , во однос на оние под 5 години ($U = 365,5$, $*p = 0,048$, слика 32, а). Исто така, и во рамките на децата со активна туберкулоза, забележавме дека децата над 5 години имаат сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ , во однос на оние под 5 години ($U = 93,0$, $*p = 0,029$, слика 32 б).



Слика 32: Споредба на нивоата на IFN- γ (IU/mL) помеѓу двете возрастни групи (деца под 5 години и деца над 5 години)

Во рамките и на двете групи (деца со латентна туберкулозна инфекција - а, и деца со активна туберкулоза – б), децата над 5 години имаат сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ , во однос на оние под 5 години $*p < 0,05$.

5.4. Примена на TST-тестот според методот на Манту во дијагнозата на активна туберкулоза и латентна туберкулозна инфекција во детската возраст

5.4.1. Споредба на дијаметарот на индурација на TST (mm) помеѓу децата со активна туберкулоза и децата со латентна туберкулозна инфекција

Како што беше спомнато во делот за статистичка обработка, бидејќи вредностите за дијаметарот на индурација на TST (mm) отстапуваат сигнификантно од нормалната дистрибуција (Shapiro Wilk тест $p > 0,05$; хистограмот на дистрибуција е претставен на слика 11б), резултатите за оваа варијабла беа обработени ползувајќи непараметарска статистика и се соодветно претставени преку боксплотови.

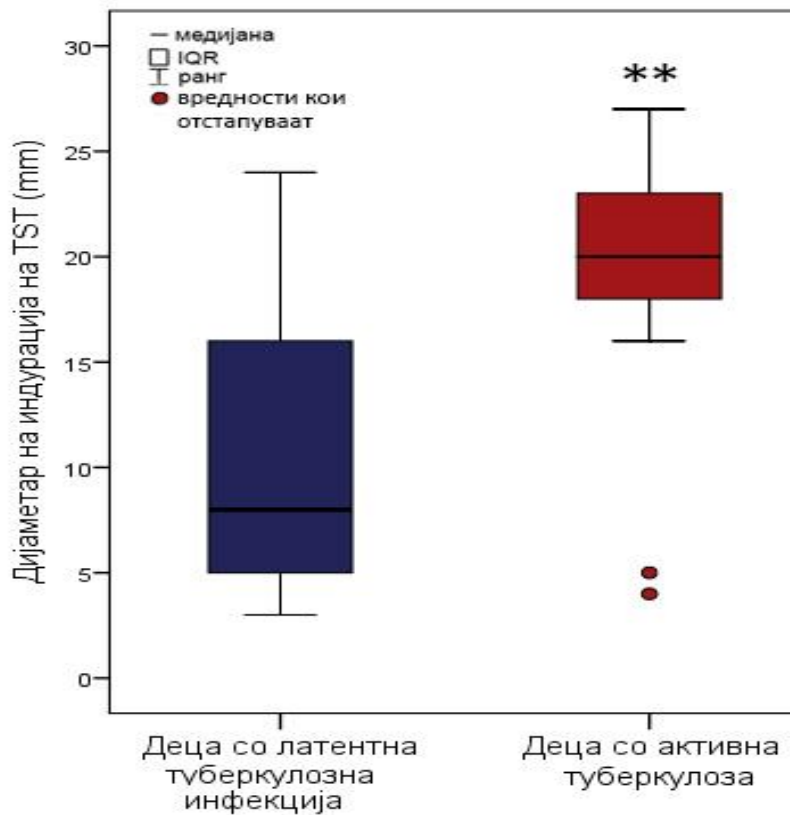
Имено, бидејќи дијаметарот на индурација се разликува кај децата со и без белег од BCG, резултатите за оваа варијабла се проследени засебно, во зависност од присуството или отсуството белегот.

Вредностите за дијаметарот на индурација на TST (mm) помеѓу децата со активна туберкулоза и децата со латентна туберкулозна инфекција се претставени на следните табели (табели 13 и 14).

Табела 13: Споредба на вредностите за дијаметарот на индурација на TST помеѓу децата со активна туберкулоза и децата со латентна туберкулозна инфекција, во рамките на испитаниците со BCG-белег

Параметар	ЛТБИ (n = 39)	Активна ТБ (n = 18)	Сигнификантност
ДЕЦА СО BCG БЕЛЕГ			
Дијаметар на индурација на TST (mm)	<u>8</u> (IQR = 11, ранг 3 – 24)	<u>20</u> (IQR = 5, ранг 4 – 27)	Mann-Whitney тест: $U = 121,0$ $p = 0,00008 (**)$

Како што се забележува, Mann-Whitney тестот покажа дека меѓу испитаниците со BCG-белег, децата со активна туберкулоза имаат сигнификантно повисоки вредности за дијаметарот на индурација, во однос на децата со латентна туберкулозна инфекција ($U = 121,0$; $**p = 0,00008$). Резултатите се прикажани графички на сликата 33.

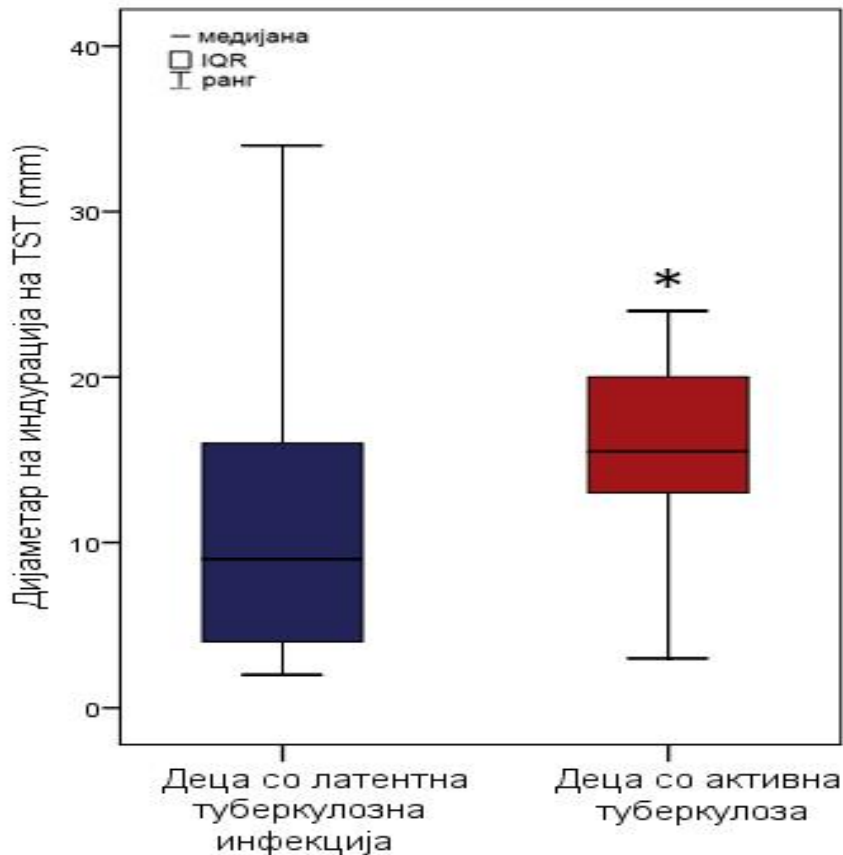


Слика 33: Споредба на вредностите за дијаметарот на индурација на TST помеѓу децата со активна туберкулоза и децата со латентна туберкулозна инфекција, во рамките на испитаниците со белег. Децата со активна туберкулоза имаат сигнификантно повисоки вредности за дијаметарот на индурација, во однос на оние со латентна туберкулозна инфекција $**p < 0,001$.

Табела 14: Споредба на вредностите за дијаметарот на индурација на TST помеѓу децата со активна туберкулоза и децата со латентна туберкулозна инфекција, во рамките на испитаниците без белег

Параметар	ЛТБИ (n = 25)	Активна ТБ (n = 18)	Сигнификантност
ДЕЦА БЕЗ ВСГ БЕЛЕГ			
Дијаметар на индурација на TST (mm)	<u>9</u> (IQR =13; ранг 2 – 34)	<u>15</u> (IQR = 7; ранг 3 – 24)	Mann-Whitney тест: $U = 135,5$ $p = 0,027$ (*)

Како што се забележува, Mann-Whitney тестот покажа дека и кај испитаниците што немаат ВСГ-белег, децата со активна туберкулоза имаат сигнификантно повисоки вредности за дијаметарот на индурација, во однос на оние со латентна туберкулозна инфекција ($U = 135,5$; $*p = 0,027$). Резултатите се прикажани графички на сликата 34.



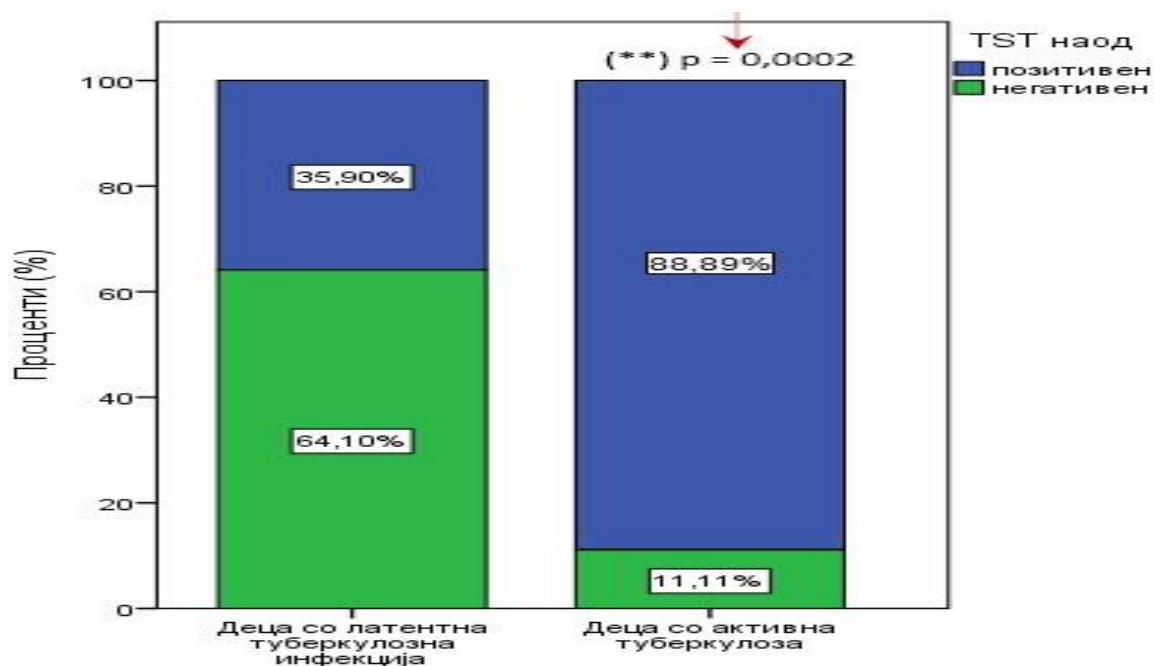
Слика 34: Споредба на вредностите за дијаметарот на индурација на TST помеѓу децата со активна туберкулоза и децата со латентна туберкулозна инфекција, во рамките на испитаниците без белег. Децата со активна туберкулоза имаат сигнификантно повисоки вредности за дијаметарот на индурација, во однос на оние со латентна туберкулозна инфекција * $p < 0,05$.

Врз база на препораките од литературата, испитаниците, исто така, беа поделени на деца со позитивен наод (≥ 15 mm кај децата со белег, односно ≥ 6 кај децата без белег) и негативен наод за TST (< 15 mm кај децата со белег, односно < 6 кај децата без белег). Резултатите се прикажани на табелите 15 и 16.

Табела 15: Споредба на фреквенцијата на испитаници со позитивен TST наод помеѓу децата со активна туберкулоза и децата со латентна туберкулозна инфекција (во рамките на испитаниците со белег)

Параметар	ЛТБИ (n = 39)	Активна ТБ (n = 18)	Сигнификантност
ДЕЦА СО BCG-БЕЛЕГ			
TST наод			
Позитивен	35,9 %	88,9 %	$\chi^2 = 13,872$
Негативен	64,1 %	11,1 %	$p = 0,0002 (**)$

Како што се забележува, по групирањето на испитаниците според TST-наодот, кај испитаниците со белег забележавме сигнификантно повисока фреквенција на позитивен наод кај активната туберкулоза (88,9 %), во однос на децата со латентна туберкулоза (35,9 %) ; $\chi^2 = 13,872$, $**p = 0,0002$ (слика 35).

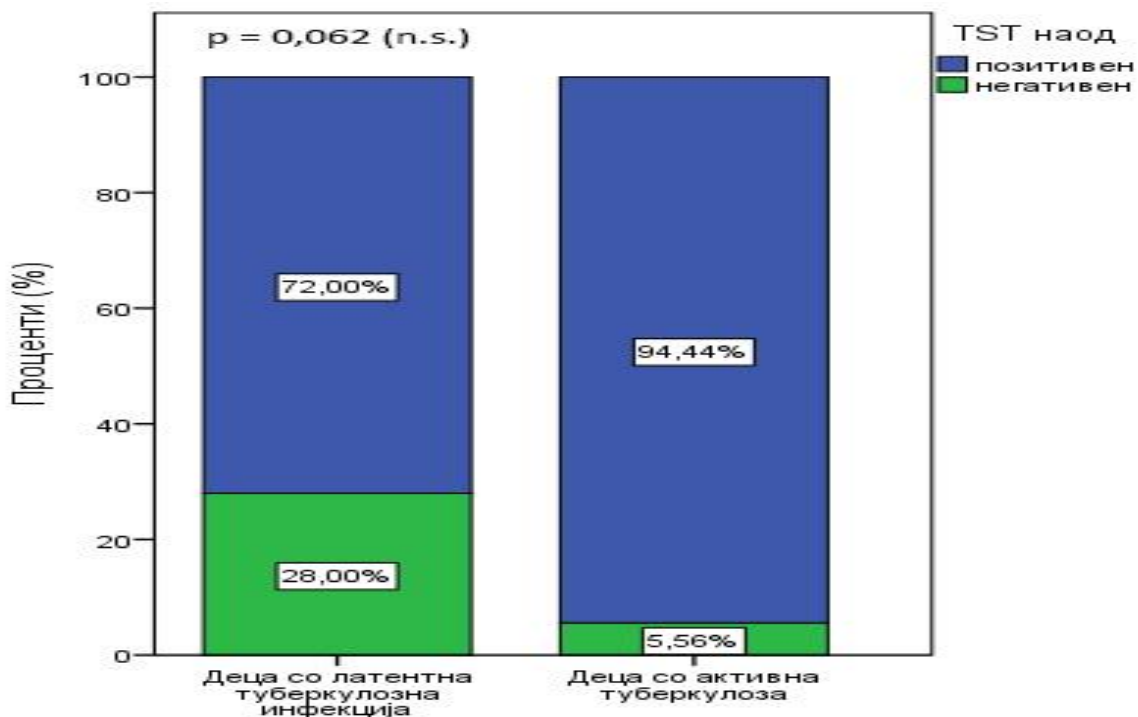


Слика 35: Во рамките на испитаниците со белег, постои сигнификантно повисока фреквенција на позитивниот наод кај активната туберкулоза, во однос на латентната туберкулозна инфекција.

Табела 16: Споредба на фреквенцијата на испитаници со позитивен наод помеѓу децата со активна туберкулоза и децата со латентна туберкулозна инфекција (во рамките на испитаниците без BCG-белег)

Параметар	ЛТБИ (n = 25)	Активна ТБ (n = 18)	Сигнификантност
ДЕЦА БЕЗ BCG БЕЛЕГ			
TST наод			
Позитивен	72 %	94,4 %	$\chi^2 = 3,481$
Негативен	28,0 %	5,6 %	p = 0,062 (n.s.)

Како што се забележува, во рамките на испитаниците без BCG-белег, не постои сигнификантна разлика во фреквенцијата на позитивни наоди помеѓу активната туберкулоза и латентната туберкулозна инфекција, ($\chi^2 = 3,481$, p = 0,062, n.s.) (слика 36).



Слика 36: Постои разлика во фреквенцијата на позитивни наоди, но истата не е сигнификантна помеѓу двете проследени групи испитаници без белег (72 % VS 94,4 %, p = 0,062, n.s.)

5.4.2. Сензитивност на TST

Бидејќи TST-тестот не беше изведен за контролната група од здрави деца, во рамките на оваа студија не можевме да ја одредиме специфичноста на TST, па оттаму во овој дел се насочивме на детерминација на сензитивноста.

Сензитивноста на тестот може лесно да се одреди според процентот на позитивни детектирани наоди во рамките за групите од интерес. Резултатите се прикажани на табелата 17.

Табела 17: Сензитивност на TST

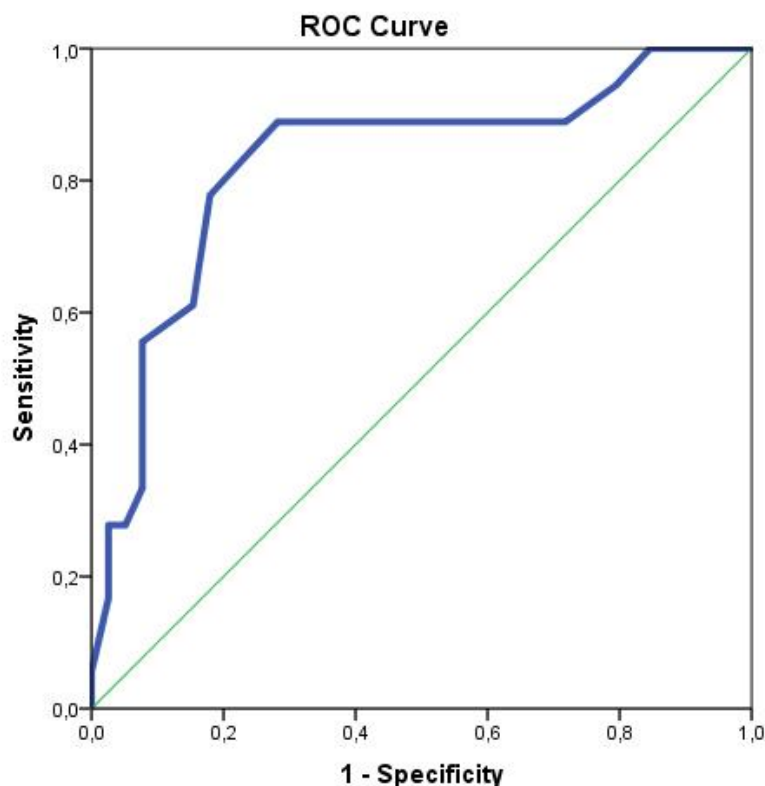
Параметар	ЛТБИ (n = 64)	Активна ТБ (n = 36)
TST-наод		
Позитивен	50,0 %	91,7 %
Негативен	50,0 %	8,3 %

Како што се забележува, врз основа на препорачаните гранични вредности (≥ 15 mm кај децата со белег, односно ≥ 6 кај децата без белег), тестот има ниска сензитивност за откривање на децата со латентна туберкулозна инфекција (50 %) и висока сензитивност за откривање на активната туберкулоза (91,7 %).

5.4.3. Детерминација на гранични (cutoff) дијагностички вредности на TST за децата со латентна туберкулозна инфекција и активна туберкулоза во Македонија

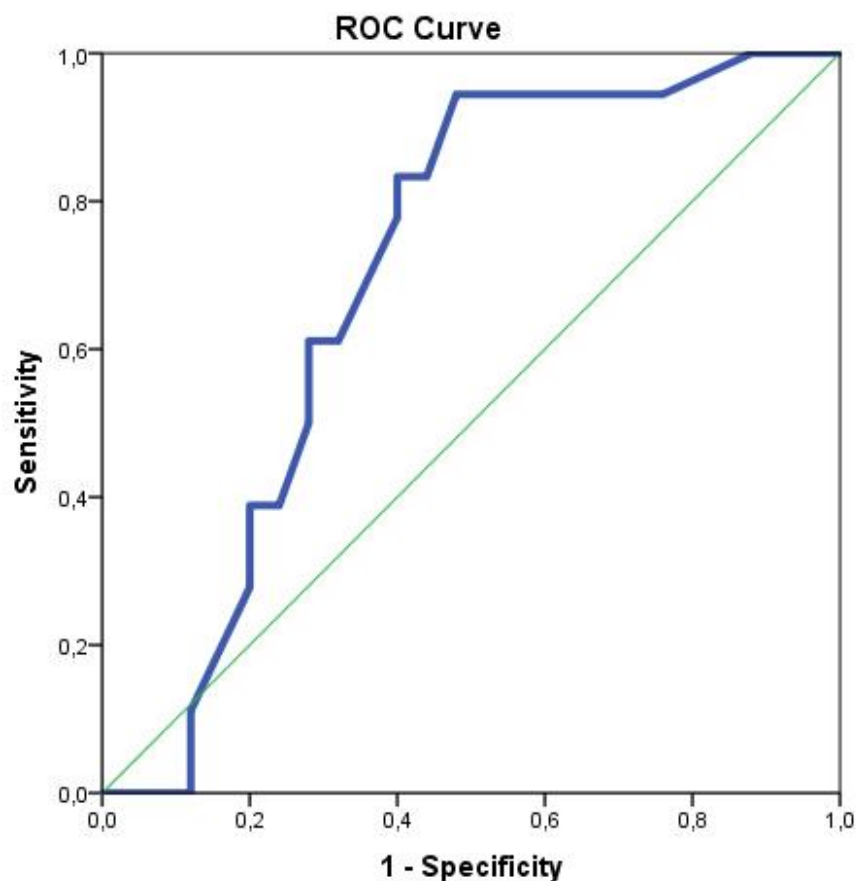
Во овој дел е извршена анализа за предлагање на нова гранична (cutoff) дијагностичка вредност на TST за дискриминација помеѓу децата со латентна туберкулозна инфекција и активна туберкулоза, кои се однесуваат на испитаниците за Република Македонија.

Врз основа на резултатите добиени од оваа студија, во рамките на испитаниците со белег, ROC-анализата ја посочи вредноста од $\geq 16,5$ mm како оптимална за дискриминација помеѓу децата со латентна туберкулозна инфекција и оние со активна туберкулоза, со 83,3 % сензитивност и 76,9 % специфичност, оставајќи 16,7 % лажно негативни и 23,1 % лажно позитивни наоди (ROC AUC = 0,828, **p = 0,00008). Вредностите за AUC укажуваат на висока дискриминаторна моќ, со висок степен на сигнификантност. ROC-анализата е претставена на следната слика (слика 37).



Слика 37: Детерминација на гранични (cutoff) дијагностички вредности на TST за децата со активна туберкулоза во Македонија, во рамките на испитаниците со белег

Во рамките на испитаниците без белег, ROC-анализата покажа ниска дискриминаторна моќ (ROC AUC = 0,699), иако анализата беше статистички значајна (*p = 0,028) (слика 38). Врз основа на анализата, може да се предложи вредноста од $\geq 11,5$ mm за откривање на активната туберкулоза, со 83,3 % сензитивност и за жал, ниска специфичност од 60 %, оставајќи 16,7 % лажно негативни и 40,0 % лажно позитивни наоди.



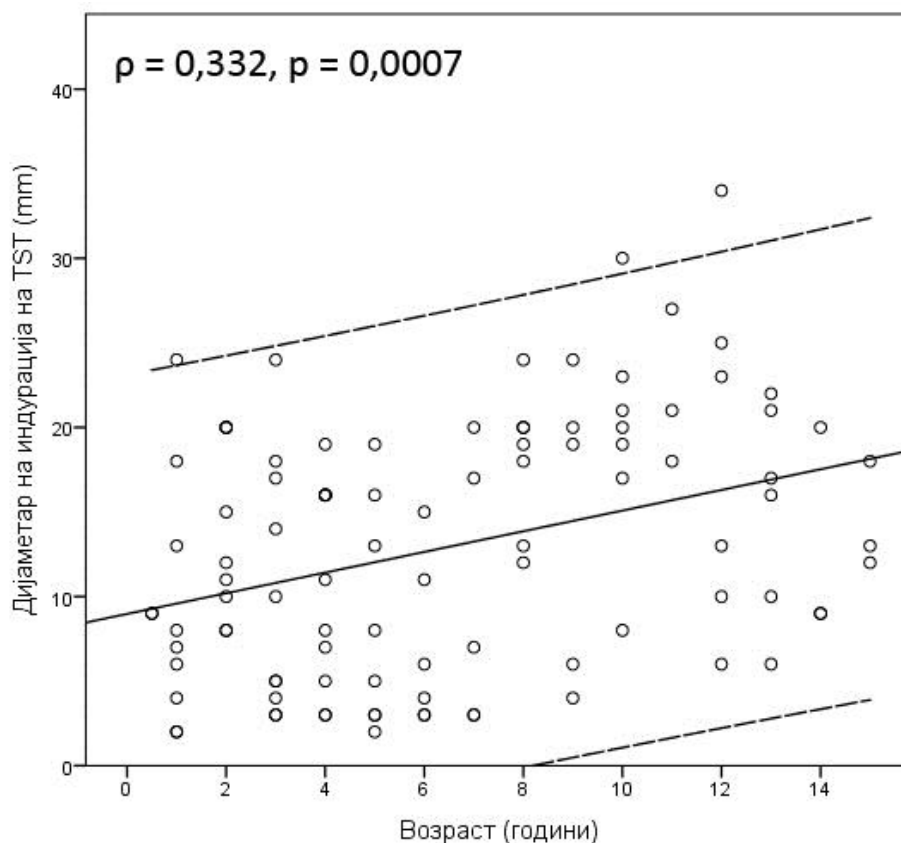
Слика 38: Детерминација на гранични (cutoff) дијагностички вредности на TST за децата со активна туберкулоза во Македонија, во рамките на испитаниците без белег

Се забележува помала површина под кривата (сината линија) во однос на претходната анализа, што укажува на фактот дека детерминираната вредност има помала специфичност за откривње на активната туберкулоза и поголема веројатност за појава на лажно позитивни вредности.

5.4.4. Влијание на возраста врз дијаметарот на индурација на TST (mm)

Во овој дел, го испитавме влијанието на возраста врз дијаметарот на индурација на TST (mm) кај децата со латентна туберкулозна инфекција и кај оние со активна туберкулоза.

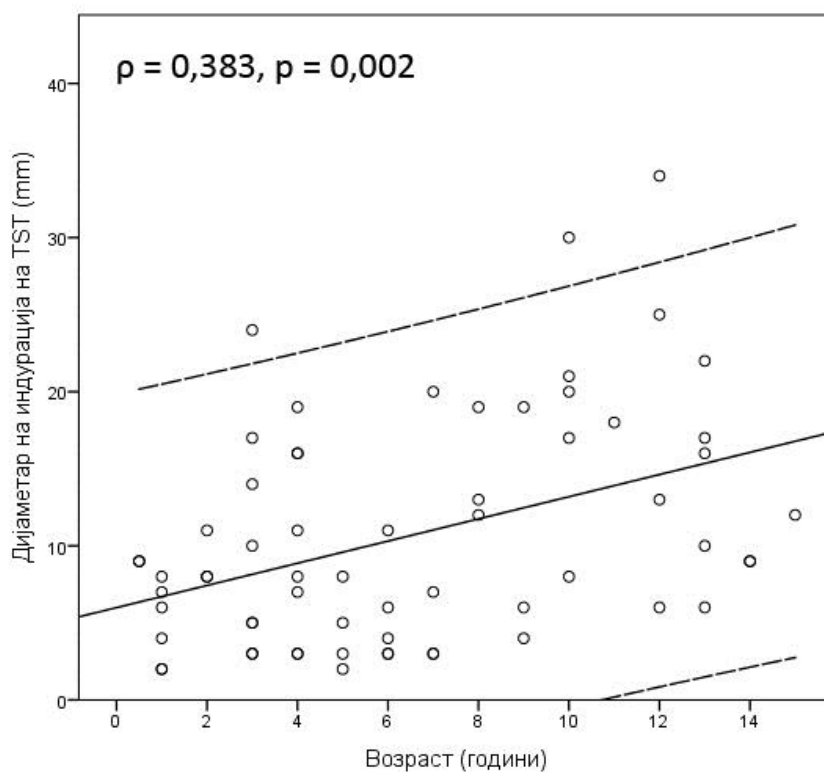
Сумарно, имајќи ги предвид двете групи заедно (деца со латентна туберкулозна инфекција и деца со активна туберкулоза), беше забележана слаба до умерена, но статистички високо значајна (** $p = 0,0007$) позитивна корелација помеѓу возраста и дијаметарот на индурација на TST (Spearman $\rho = 0,332$). Коефициентот на корелација има ниска вредност, што укажува на слаб до умерено слаб позитивен тренд меѓу двете варијабли, односно, средно слаб тренд повозрасните деца да имаат повисоки вредности за дијаметарот на индурација (слика 39).



Слика 39: Влијание на возраста врз дијаметарот на индурација на TST (mm)

Анализата е извршена имајќи ги предвид двете групи заедно (деца со латентна туберкулозна инфекција и деца со активна туберкулоза, $n = 100$ испитаници). Се забележува трендот за позитивна корелација (означена со права линија; испрекинатите линии означуваат 95 % интервал на доверба).

Натамошните биваријантни статистички анализи покажаа дека постои слаба до умерена позитивна корелација помеѓу возраста и дијаметарот на индурација на TST само кај децата со латентна туберкулозна инфекција (Spearman $\rho = 0,383$, $*p = 0,002$; $n = 64$), додека пак истата комплетно отсутствува во рамките на групата деца со активна туберкулоза ($p = 0,060$, n.s.) (слика 40).



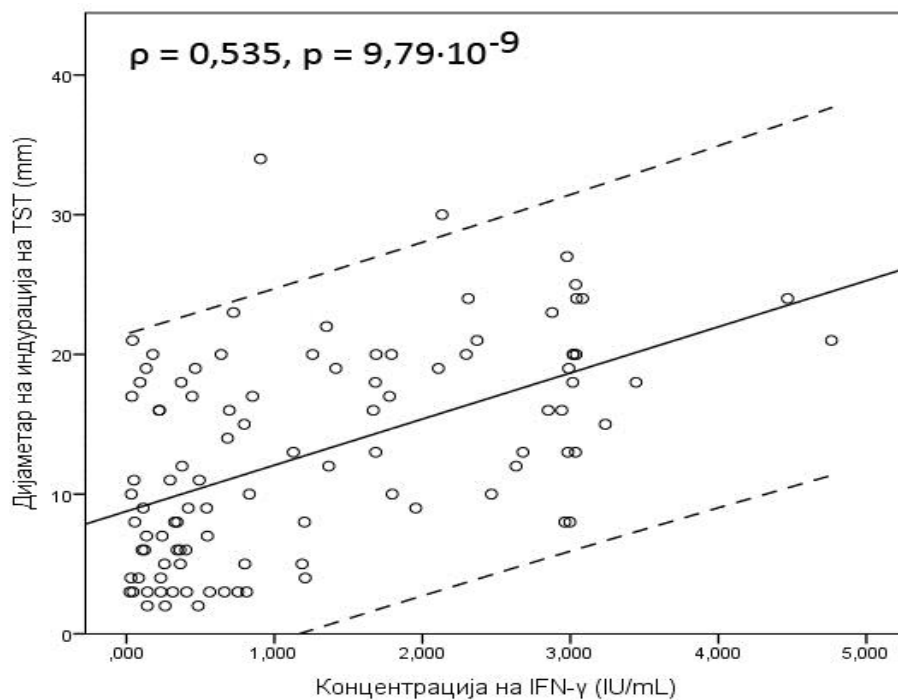
Слика 40: Влијание на возраста врз дијаметарот на индурација на TST кај децата со латентна туберкулозна инфекција ($n = 64$ испитаници)

Се забележува слаб до умерен тренд за позитивна корелација (означен со права линија; испрекинатите линии означуваат 95 % интервал на доверба).

5.5. Споредба помеѓу TST-тестот и Quantiferon TB gold во дијагнозата на активна туберкулоза и латентна туберкулозна инфекција во детската возраст

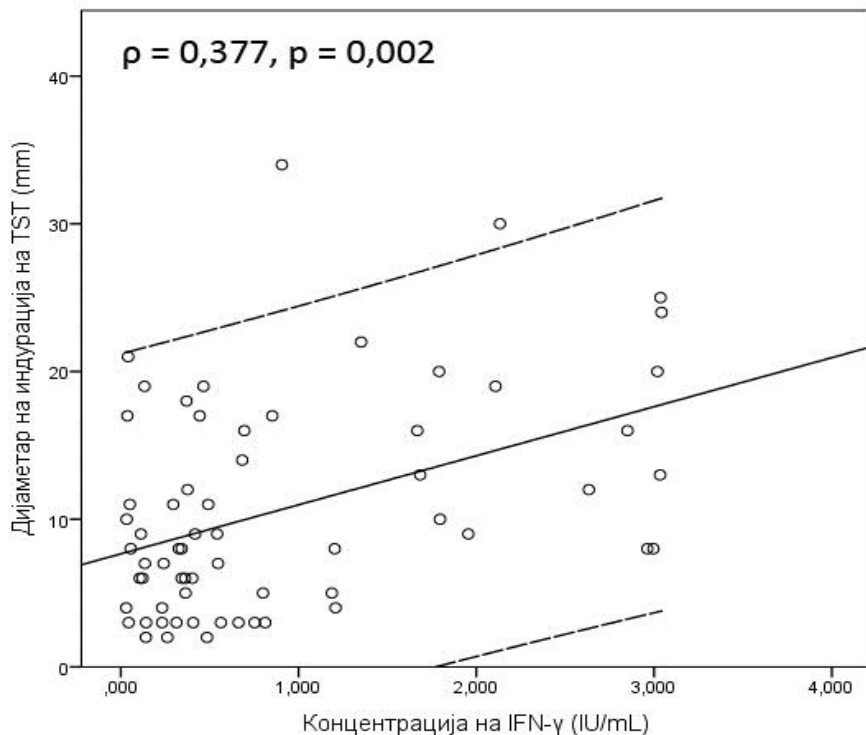
Во овој дел е извршена споредба помеѓу TST-тестот (методот на Манту) и Quantiferon TB gold, како и нивната сензитивност за откривање на активната туберкулоза и латентната туберкулозна инфекција.

Најпрвин, беше тестирана корелацијата помеѓу квантитативните величини што се добиваат од овие два теста. Биваријантните статистички анализи покажаа дека постои умерена до силна позитивна корелација помеѓу дијаметарот на индурација (од TST) и нивоата на IFN- γ (измерени преку Quantiferon TB gold), со високо ниво на сигнификантност ($\rho = 0,535$; $p = 9,79 \cdot 10^{-9}$), што укажува на фактот дека при добиен повисок дијаметар на индурација, се очекува да се добијат и повисоки нивоа на IFN- γ (слика 41).

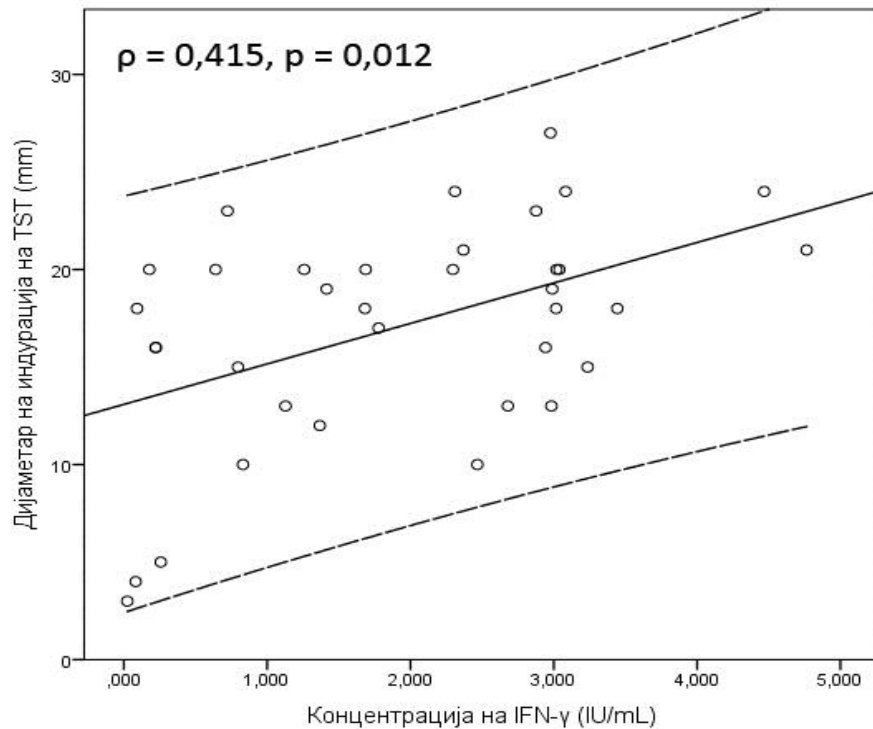


Слика 41: Постои умерена до силна позитивна корелација помеѓу дијаметарот на индурација (од TST) и нивоата на IFN- γ (измерени преку Quantiferon TB gold), со високо ниво на сигнификантност. Анализата е извршена имајќи ги предвид двете групи заедно (деца со ЛТБИ и деца со активна ТБЦ, $n = 100$ испитаници).

Исто така, бевме заинтересирани дали оваа корелација е посилна во рамките на групата на деца со латентна туберкулозна инфекција, или пак кај децата со активна туберкулоза. Натомошните биваријантни статистички анализи покажаа дека ваквата зависност е посилна и поочигледна кај децата со активна туберкулоза ($\rho = 0,415$, $p = 0,012$) (слика 43), односно истата е послабо изразена кај латентната туберкулоза ($\rho = 0,377$, $p = 0,002$) (слика 42).



Слика 42: Корелација помеѓу дијаметарот на индурација (од TST) и нивоата на IFN- γ (измерени преку *Quantiferon TB gold*), во рамките на испитаниците со латентна туберкулозна инфекција. Се забележува дека трендот на позитивна меѓусебна зависност е послаб (понизок коефициент на корелација, $\rho = 0,377$).



Слика 43: Корелација помеѓу дијаметарот на индурација (од TST) и нивоата на IFN- γ (измерени преку *Quantiferon TB gold*), во рамките на испитаниците со активна туберкулоза. Корелацијата е посилна во однос на онаа кај испитаниците со латентна туберкулозна инфекција.

Со цел да проследиме колку од наодите од двата теста се разликуваат или пак, се совпаѓаат меѓусебно, беше направена следнава споредба (табела 18).

Табела 18: Споредба на позитивните и негативните наоди меѓу двата теста во двете групи заедно (n=100)

Параметар	IFN- γ позитивен	IFN- γ негативен
TST наод		
Позитивен	53 %	13 %
Негативен	16 %	18 %

Како што се забележува од табелата, 53 % од испитаниците биле со позитивен наод и кај двата теста, додека 18 % биле откриени со негативни наоди и на двата теста. Позитивни

според наодот на TST биле 13 % од испитаниците, а негативни според *Quantiferon TB gold* тестот. Спротивно, 16 % биле позитивни според *Quantiferon TB gold* тестот, а негативни според TST-наодот. Секако, ваквите разлики се должат на сензитивноста и специфичноста на детекцијата на двата теста, која беше одредена погоре.

Совпаѓањето во наодите на двата теста засебно во групата на деца со ЛТБИ и во групата на активна ТБЦ е прикажано на табелите 19 и 20.

Табела 19: Споредба на наодите помеѓу двата теста кај децата со ЛТБИ (n=64)

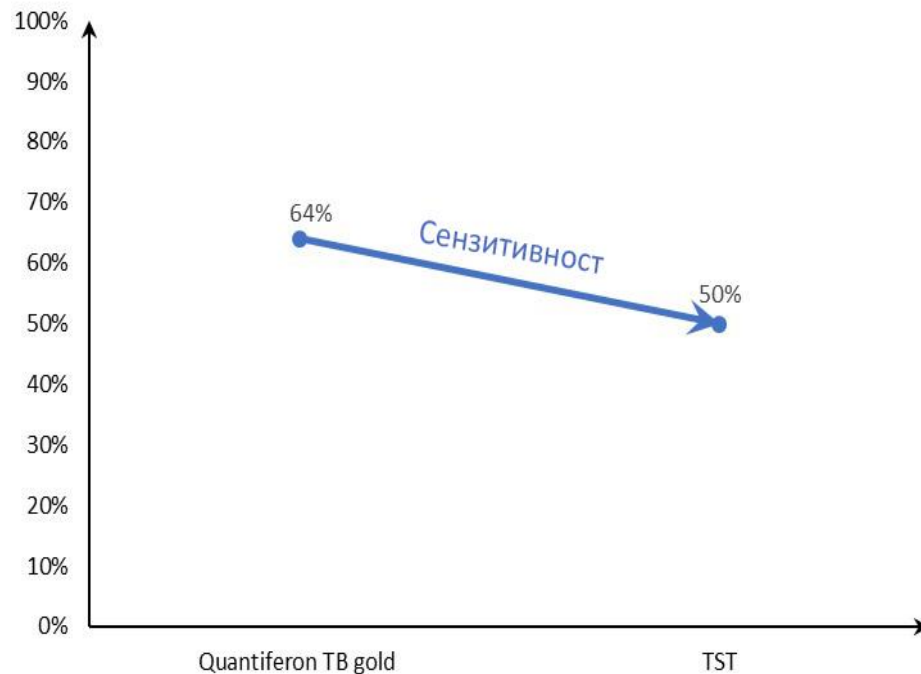
Параметар	IFN- γ позитивен	IFN- γ негативен
TST-наод		
Позитивен	39 %	12,5 %
Негативен	25 %	23,5 %

Табела 20: Споредба на наодите помеѓу двата теста кај децата со активна ТБЦ (n=36)

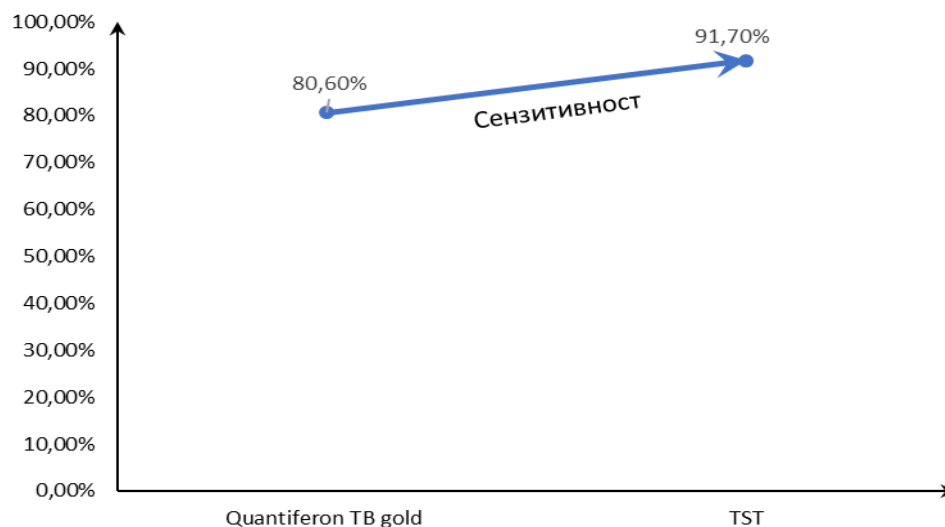
Параметар	IFN- γ позитивен	IFN- γ негативен
TST наод		
Позитивен	77,8 %	13,8 %
Негативен	0 %	8,4 %

Од добиените резултати се забележува дека најголемо совпаѓање на позитивни наоди од двата теста има кај децата со активна ТБЦ, додека истото изнесува 39 % во групата на ЛТБИ.

Со цел споредба на сензитивноста и специфичноста на двата теста, резултатите обработени во претходните поглавја се претставени овде во вид на дијаграми, со цел полесно изведување на генералните заклучоци.



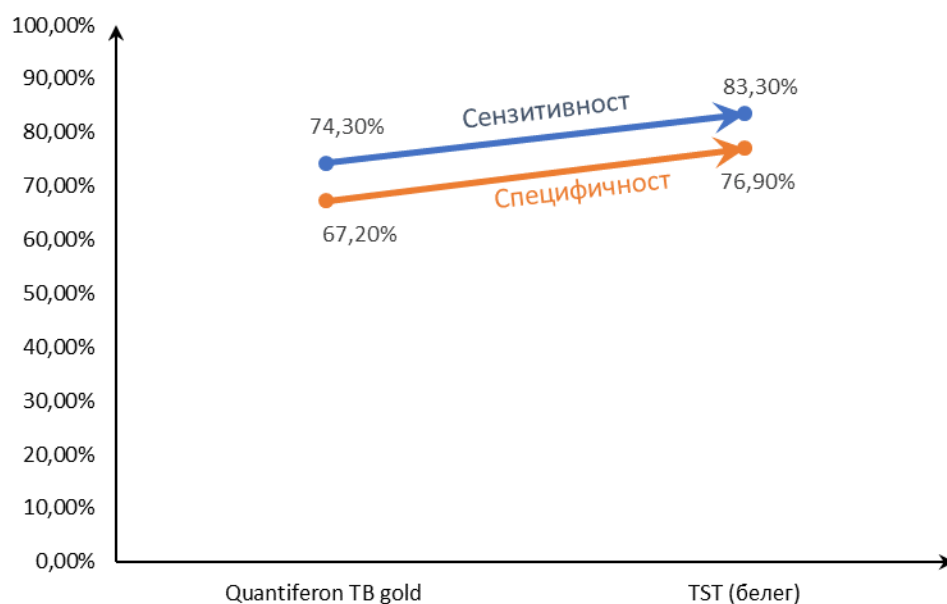
Слика 44: Споредба на сензитивноста на двата теста врз основа на интернационално предложените гранични вредности и резултатите од оваа студија за откривање на децата со ЛТБИ во однос на здравите контроли



Слика 45: Споредба на сензитивноста на двата теста, врз основа на интернационално предложените гранични вредности и резултатите од оваа студија за откривање на децата со активна ТБЦ, во однос на оние со ЛТБИ

Како што се забележува од дијаграмите 44 и 45, *Quantiferon TB gold* тестот има повисока сензитивност за детекција на децата со латентна туберкулозна инфекција во однос на здравите контроли; спротивно пак, TST е посензитивен за детекција на децата со активна туберкулоза во однос на децата со латентна туберкулозна инфекција.

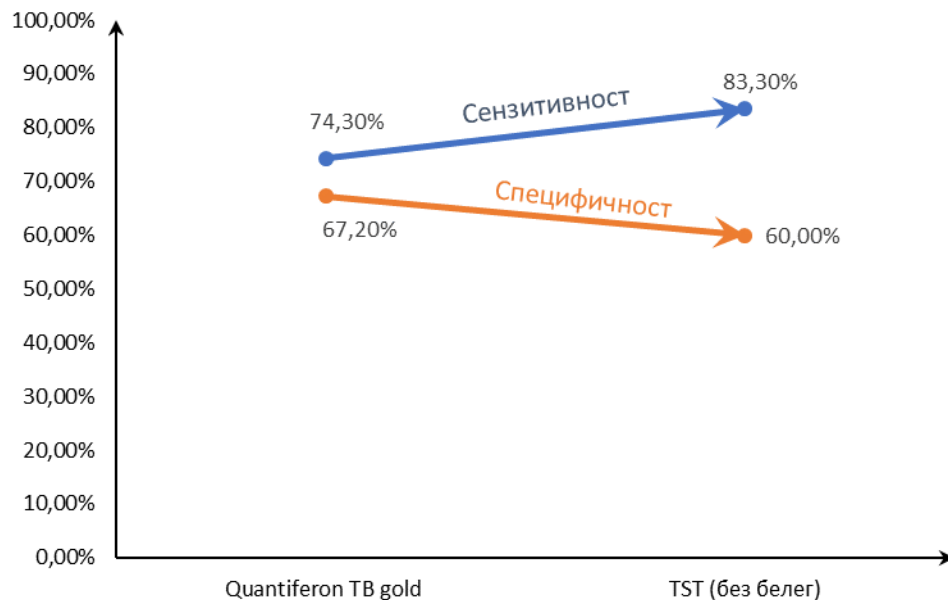
Во рамките на овој докторски труд, беа предложени и нови гранични вредности за дискриминација помеѓу активната туберкулоза и латентната туберкулозна инфекција. Споредбата на сензитивноста и специфичноста на двата теста за новите предложени гранични вредности (од оваа студија) се дадени на следните дијаграми (46 и 47).



Слика 46: Споредба на сензитивноста и специфичноста на двата теста, врз основа на детерминираниите гранични вредности во оваа студија за дискриминација меѓу децата со активна туберкулоза, во однос на оние со латентна туберкулозна инфекција. Споредбата е направена за децата со BCG-белег.

Како што се забележува од сликата 46, за новите гранични вредности предложени од оваа студија, TST-тестот има повисока сензитивност и повисока специфичност од *Quantiferon TB gold* тестот во рамките на испитаниците со белег.

Спротивно пак, TST-тестот има повисока сензитивност, но пониска специфичност од *Quantiferon TB gold* кај испитаниците без белег (слика 47).



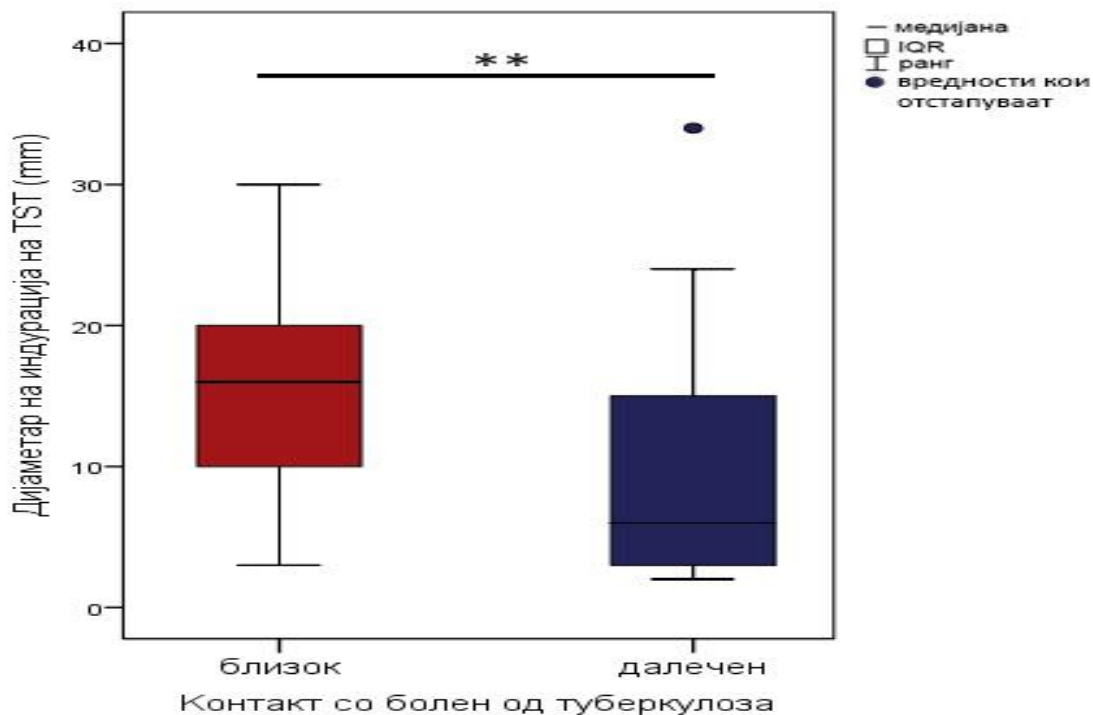
Слика 47: Споредба на сензитивноста и специфичноста на двата теста врз основа на детерминираниите гранични вредности во оваа студија за дискриминација меѓу децата со активна туберкулоза, во однос на оние со латентна туберкулозна инфекција. Споредбата е направена за децата без BCG-белег.

5.6. Споредба на вредностите на TST и на IFN- γ во зависност од контактот со болен од туберкулоза

Како што се забележува од табелата 21, испитаниците со близок контакт имаат сигнификантно повисок дијаметар на индурација при TST, во однос на оние со далечен контакт (** $p = 0,00001$). Истото може да се забележи и на сликата 48 (забелешка: 5 индивидуи имаа неодреден контакт и истите беа исклучени од анализата).

Табела 21: Споредба на вредностите за дијаметарот на индурација на TST во зависност од контактот со болен од туберкулоза

Параметар	Близок контакт (n = 58)	Далечен контакт (n = 37)	Сигнификантност
Дијаметар на индурација на TST (mm)	<u>16</u> (IQR = 10) (ранг 3 – 30)	<u>6</u> (IQR = 13) (ранг 2 – 34)	Mann-Whitney тест: U = 499,5 p = 0,00001(**)

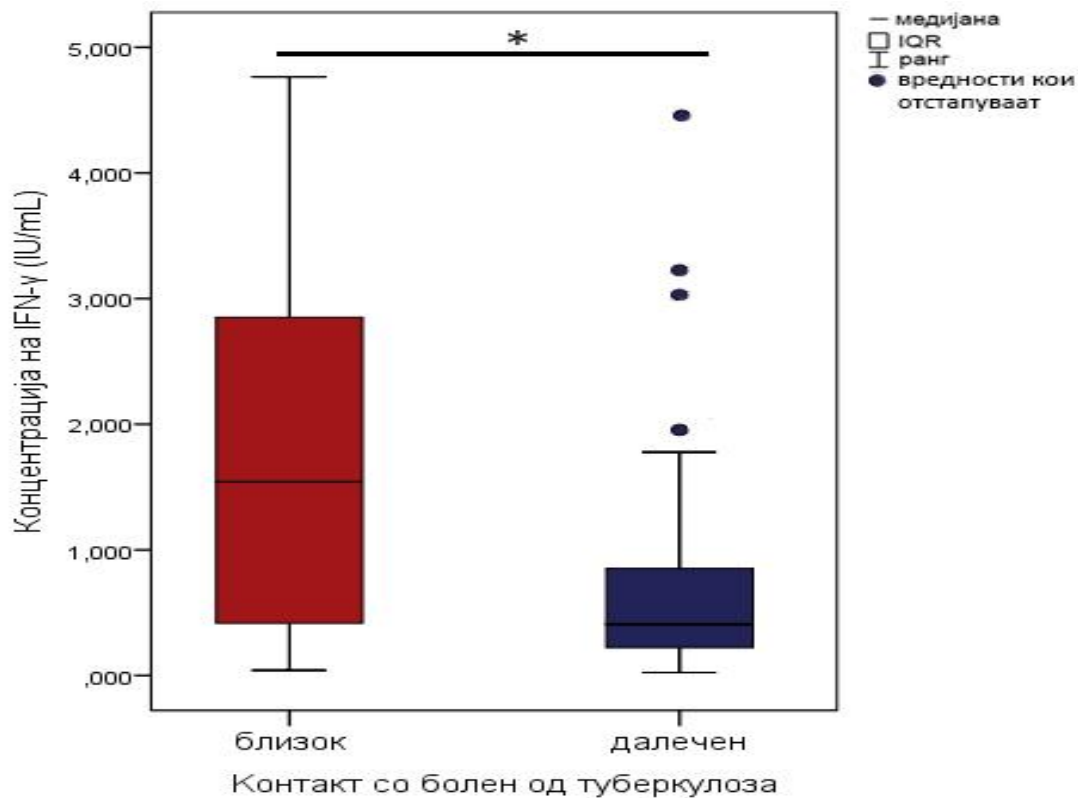


Слика 48: Испитаниците со близок контакт имаат сигнификантно повисок дијаметар на индурација при TST, во однос на оние со далечен контакт ** $p < 0,001$.

На следната табела е прикажана споредбата на вредностите за IFN- γ во зависност од контактот со болен од туберкулоза. Како што се забележува од табелата, испитаниците со близок контакт имаат сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ , во однос на оние со далечен контакт (* $p = 0,002$). Истото може да се забележи и на сликата 49 (забелешка: 5 индивидуи имаа неодреден контакт и истите беа исклучени од анализата).

Табела 22: Споредба на вредностите за IFN- γ во зависност од контактот со болен од туберкулоза

Параметар	Близок контакт (n = 58)	Далечен контакт (n = 37)	Сигнификантност
Концентрација на IFN- γ (IU/mL)	<u>1,54</u> (IQR = 2,44) (ранг 0,04 – 4,76)	<u>0,41</u> (IQR = 0,70) (ранг 0,02 – 4,47)	Mann-Whitney тест: U = 666,0 p = 0,002 (*)



Слика 49: Испитаниците со близок контакт имаат сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ , во однос на оние со далечен контакт * $p < 0,05$

6. ДИСКУСИЈА

Во оваа студија се анализирани вкупно 133 испитаници, од кои 33 здрави деца, 64 деца со латентна туберкулозна инфекција и 36 деца со активна туберкулоза. Како што може да се види од резултатите, имавме избалансиран примерок во однос на полот и возраста во сите три групи. Исто така, во групите беа еднакво застапени децата под 5 и над 5 години.

Сите деца примиле BCG-вакцина по раѓање. Статистичките тестови покажаа дека постои апроксимативно еднаква фреквенција на застапеност на белег од BCG меѓу трите групи.

Во однос на средината од која потекнуваат, нашите резултати покажаа статистички сигнификантно зголемена застапеност на деца со ЛТБИ меѓу испитаниците кои потекнуваат од урбана средина. Овој податок укажува дека урбаната средина носи поголем ризик за туберкулозна инфекција кај децата, во однос на руралната средина, или можеби за иследување во нашиот Институт се упатуваат поголем дел од лицата што живеат во град во однос на оние од село.

Дијагнозата на детската туберкулоза претставува предизвик заради неспецифичната клиничка манифестација, како и нискиот процент на позитивни микробиолошки наоди. Според педијатриските водичи, препорачано е комбинирање на клинички, радиолошки, микробиолошки и имунолошки иследувања за подобрување на дијагнозата[52-54].

Кај сите испитаници во оваа студија со сомнение за ЛТБИ или активна ТБЦ беше реализирана рендгенографија на белите дробови. Нашите резултати покажаа дека кај децата со латентна туберкулозна инфекција, апсолутно доминира уредниот наод (100 %), додека пак кај испитаниците со активна туберкулоза, доминираат радиолошки промени во прилог на примарната белодробна туберкулоза (77,78 %). Според податоци од литературата, во детската возраст радиолошки знаци за паренхимна инфекција се гледаат во околу 70 % од случаите со белодробна туберкулоза[55]. Повпечатлив наод е хиларната лимфаденопатија од истата страна [57]. Кавернозната форма поретко ја има, во околу 10-30 % [56], а во нашите резултати, во 5,6 % од децата со активна ТБЦ. Специфичниот плеврален излив е почеста манифестација кај возрасните (30-40 %), додека кај педијатриските случаи е застапен во 5-10 % [55]. Овие податоци се совпаѓаат со добиените резултати од 8,3 % радиолошки наод во прилог на плеврален излив кај нашите испитаници.

Во оваа студија кај сите испитаници од групата на активна ТБЦ беа реализирани директни микроскопски препарати за ARB во три примероци на спутум или гастричен лават, како и култура на тврда подлога според Löwenstein–Jensen. Според мета-анализата (Kunkel et al. 2016) процентот на позитивни директни микроскопски препарати од спутум во детската возраст е само 6,8 %, споредено со возрасните пациенти, каде што овој процент изнесува 52 %. Истата анализа покажува дека овој процент зависи од возраста на децата, односно истиот изнесува 0,5 % кај децата од 0 до 4-годишна возраст, споредено со 14 % кај деца од 5 до 14 години [58]. Во нашите резултати, кај 11,1 % од испитаниците со активна ТБЦ се добиени позитивни микроскопски препарати. Позитивна култура добивме кај 22,2 % од децата со ТБЦ. Во една студија (Сакир Е et al.) од 2018 година, се споредува дијагностичката вредност на културата според Löwenstein–Jensen од различни примероци: гастричен лават, бронхоалвеоларен лават (BAL) и назофарингеален аспират кај децата со висок сомнеж за белодробна туберкулоза. Резултатите покажале дека во најголем процент (27,5 %) позитивна култура е добиена од BAL, во 22,5 % од гастричен лават и во 12,5 % од назофарингеален аспират. Во истата студија, микроскопските препарати за ARB во гастричен лават биле позитивни во 17,5 % од случаите[59].

Ниската сензитивност на директните микроскопски препарати укажува на потребата од нови дијагностички тестови. Во повеќе студии од последните неколку години се зборува за потенцијалната улога на тестови на амплификација на нуклеински киселини, како што е Xpert MTB/RIF во дијагнозата на детската туберкулоза[60,61].

За намалување на инциденцата на активната туберкулоза, од особена важност е откривањето и третирањето на лицата со латентна туберкулозна инфекција. Посебен аспект на туберкулозата во детската возраст е брзата прогресија во болест, уште во првите години по инфекцијата со *M. tuberculosis*, додека кај возрасните, латентната инфекција може со децении да перзистира без прогресија во активна болест [62]. Туберкулинскиот кожен тест е едноставен и евтин за употреба во дијагнозата на ЛТБИ. Меѓутоа, на неговата сензитивност влијае BCG-вакцината, како и експозицијата кон нетуберкулозни микобактерии[63,64]. Повеќе автори нагласуваат дека вакцинацијата со BCG може да доведе до лажно позитивни резултати на TST и дека специфичноста на IGRA-тестовите е повисока[65-67]. Исто така, за IGRA-тестовите потребна е една посета на пациентот, а за TST потребна е втора посета по 72 часа за мерење на дијаметарот на индурација. Според

студијата на Cheng и др. процентот на родители што ги донеле своите деца за интерпретација на Манту-тестот се движел од 58 до 72 %[68]. Разликите помеѓу TST и Quantiferon TB gold тестот се прикажани на сликата 50.

Quantiferon TB gold	TST
<i>Ин витро</i> тест	<i>Ин vivo</i> тест
Специфични антигени	Помалку специфичен ППД
Нема booster - ефект	booster - ефект
1 посета на болницот	2 посети на пациентот
Разлики помеѓу лаборатории	Разлики помеѓу интерпретација на наодите
Резултатите готови за 1 ден	Резултатите за 2-3 дена
Потребно е венепункција	Нема потреба од венепункција

Слика 50: Разлики помеѓу TST и Quantiferon TB gold тестот

Во оваа докторска дисертација од повеќе аспекти е анализирана примената на Quantiferon TB gold тестот во дијагнозата на активна туберкулоза и латентна туберкулозна инфекција во детската возраст.

Квантитавно беа одредени вредностите на IFN- γ (IU/mL) кај децата со активна туберкулоза, децата со латентна туберкулозна инфекција и контролната група здрави деца. Нашите резултати покажаа дека постојат статистички високо сигнификантни разлики во нивоата на IFN- γ (IU/mL) меѓу испитаниците од трите групи (**p = 1,00·10⁻¹⁰).

Децата со ЛТБИ и активна ТБЦ имаат сигнификантно повисоки вредности на IFN- γ во однос на контролната група здрави деца. Резултатите покажаа и статистички сигнификантно повисоки вредности на IFN- γ кај децата со активна ТБ во однос на оние со латентна туберкулозна инфекција. Податоците од литературата се различни. Whittaker et

al. [69] опишуваат пониски нивоа на IFN- γ кај децата со ЛТБИ во однос на оние со активна ТБЦ. Lattore et al. [70] во својата студија покажува несигнификантна разлика помеѓу нивоата во двете групи. Lombardi et al. [71] во студијата од 2018 година ги анализирале квантитативните вредности на IFN- γ кај децата во зависност од дијагнозата и возраста. Како и во нашите резултати, нивоата на IFN- γ биле сигнификантно повисоки кај децата со активна ТБЦ и ЛТБИ во однос на контролната група. Вредностите кај децата со активна ТБЦ биле повисоки во однос на ЛТБИ, но разликата била несигнификантна. Кога децата биле поделени во групи според возраста, помалите од 5 години со активна ТБЦ покажале сигнификантно повисоки вредности на концентрација на IFN- γ во однос на оние со ЛТБИ од истата група. За улогата на квантитативното одредување на IFN- γ сè уште се дебатира. Понова проспективна студија (Andrews et al.) [72], преку анализирање на сериските резултати од Quantiferon TB gold test со цел да се одреди нивото на IFN- γ предиктивно за активна ТБЦ кај децата, покажала дека конверзијата на нивото > 4 IU/mL е поврзана (асоцирана) со зголемен ризик од активна туберкулоза.

Врз база на препораките од производителот, испитаниците, исто така, беа поделени на деца со позитивен Quantiferon TB gold тест (IFN- $\gamma \geq 0,35$ IU/mL) и негативен (IFN- $\gamma < 0,35$ IU/mL). Резултатите покажаа дека постои сигнификантно повисок процент (80,56 %) на испитаници со позитивен наод во групата деца со активна ТБЦ, во однос на групата со ЛТБИ, што се совпаѓа со резултатите на Connel et al. во студија од 2008 година, во која 89 % од испитаниците во групата на активна ТБЦ имале позитивен Quantiferon TB gold тест[73].

Врз база на публикувани мета-анализи [34,74,75], IGRA-тестовите имаат специфичност од > 95 % за дијагноза на ЛТБИ. Сензитивноста на овие тестови може да е намалена поради инфекција со HIV, како и во детската возраст, и се движи околу 80 % [76,77].

Sun et al. [78] во мета-анализата од 2011 година за улогата на IGRA-тестовите во дијагнозата на детската туберкулоза, опишуваат сензитивност од 70 %. Податоците за сензитивноста и специфичноста на IGRA-тестовите, како и за процентот на индетерминирани резултати во литературата се неусогласени, особено за децата под 5-годишна возраст. [79-82]. Petrusci et al. [83] во студијата од 2017 год. покажуваат висока сензитивност (93,3 %) и специфичност (99,3 %) на IFN- γ во дијагнозата на активна ТБЦ.

Врз основа на добиените резултати од нашата студија, IFN- γ тестот за дадената гранична вредност од 0,35 IU/mL има 64 % сензитивност и 100 % специфичност за детекција на латентната туберкулозна инфекција, притоа оставајќи 36 % лажно негативни наоди. Во однос на активната ТБЦ, сензитивноста е повисока, односно IFN- γ тестот за дадената гранична вредност од 0,35 IU/mL има 80,6 % сензитивност и 100 % специфичност, што е во корелација со податоците од литературата.

Препорачаната гранична вредност на *Quantiferon TB gold test* од 0,35 IU/mL е одредена преку ROC-анализата на податоци и тоа, податоци од BCG вакцинирани лица со низок ризик од инфекција за специфичноста и од пациенти со културелно докажана инфекција со *M. tuberculosis* за сензитивноста [84].

Во оваа студија извршивме анализа за предлагање на нова гранична дијагностичка вредност на концентрацијата на IFN- γ (IU/mL) за децата со латентна туберкулозна инфекција и активна туберкулоза кои се однесуваат на испитаниците за Република Македонија. Нашите анализи покажаа дека вредноста од $\geq 0,252$ IU/mL IFN- γ е оптимална за дискриминација помеѓу здравите контроли и децата со латентна туберкулозна инфекција, со 82,4 % сензитивност и 81,8 % специфичност за детекција на ЛТБИ. Вредноста од $\geq 0,822$ IU/mL IFN- γ е оптимална за дискриминација помеѓу децата со латентна туберкулозна инфекција и оние со активна туберкулоза, со 74,3 % сензитивност и 67,2 % специфичност за детекција на активната ТБЦ. Причината за ова е фактот дека, иако со помала фреквенција, и кај децата со латентна туберкулозна инфекција можат да се јават вредности повисоки од 2,5 IU/mL. Во нашата студија вакви вредности имаше кај 7 од 64 анализирани деца со ЛТБИ. Во една студија (Yi L et al.) во која биле вклучени здрави контроли и лица со културелно докажана ТБЦ во Јапонија, е покажана поголема сензитивност од 96,2 % за оптимална гранична вредност од 0,168 IU/ml [85].

Постојат повеќе студии во кои се анализирала зависноста на концентрацијата на ослободениот IFN- γ од возраста на децата. Продукцијата на IFN- γ рапидно се зголемува во детството и ги достигнува возрасните вредности [86,87]. Во студијата на Connel et al. постарите деца имале позитивен IFN- γ тест [88]. Според друга студија, (Nakaoka et al.) деца на возраст < 5 години ослободуваат пониски вредности на IFN- γ по стимулација со антигени специфични за *M.tuberculosis* [89]. Во студијата на Lombardi et al. [71] постои

сигнификантно позитивна корелација помеѓу возраста на децата и нивоата на ослободениот IFN- γ . Публикациите што укажуваат на пониски вредности на Quantiferon тестот кај доенчињата и малите деца не се доволни и потребни се повеќе истражувања во таа област (Ulrich et al.) [90]. Во нашите резултати, имајќи ги предвид двете групи заедно (деца со ЛТБИ и деца со активна ТБЦ), беше забележана слаба, но статистички значајна и позитивна корелација меѓу возраста и концентрацијата на IFN- γ . Анализата на нивоата на IFN- γ (IU/mL) помеѓу двете возрасни групи (деца под 5 години и деца над 5 години) покажа дека во рамките на двете групи (ЛТБИ и активна ТБЦ), децата над 5 години имаат сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ , во однос на оние под 5 години.

Предмет на ова истражување беше и примената на TST-тестот, според методот на Манту, во дијагнозата на активна ТБЦ и ЛТБИ во детската возраст и неговата корелација со Quantiferon TB gold тестот. Врз дијаметарот на индурација на TST влијае возраста кога е добиена првата BCG-вакцина, интервалот помеѓу следната ревакцина, како и количината на администрираната вакцинална доза[51,91]. Повеќе студии во кои се анализирани деца од области со висока инциденца на ТБЦ, не покажале поврзаност помеѓу вакцинацијата со BCG и позитивноста на TST[92-96]. Спротивно на овие податоци, студиите од области со ниска инциденца забележале сигнификантна поврзаност на вакцинацијата со BCG и позитивноста на TST, како и ниска корелација меѓу TST и Quantiferon TB gold тестот кај BCG вакцинирани деца[97,98]. Според анализата на Farhat et al.(2006) ако BCG-вакцината е администрирана по раѓањето или во доенечката возраст и истата не е повторена, тогаш нејзиното влијание на специфичноста на TST е минимално, особено по повеќе од 10 години. Спротивно, ако детето е вакцинирано подоцна, или повеќе пати, BCG-вакцината ја намалува специфичноста на TST[99].

BCG-вакцинацијата во Македонија е воведена во 1948 година и до 1960 година била кампањска. До 2009 година, задолжително се вакцинирале сите новородени и доенчиња до навршени 12 месеци од животот без претходно туберкулинско тестирање, а ревакцинација со претходно тестирање со TST се спроведувала на седум и 14-годишна возраст. Во 2010 година се донесени измени во Правилникот за имунизација со кои се укинува ревакцинацијата на 14-годишна возраст[123]. Според Програмата за задолжителна имунизација на населението на Р Македонија од 2015 година, се вакцинираат сите новородени деца, без туберкулинско тестирање до крајот на првата

година од животот, односно до навршување на 12 месеци и сите деца со навршена една година од животот до навршена 14-годишна возраст кои претходно не биле вакцинирани со претходно туберкулинско тестирање, ако туберкулинскиот тест им е негативен [100].

TST во нашата студија беше анализиран од повеќе аспекти. Во однос на големината на дијаметарот на индурацијата, нашите резултати покажаа дека децата со активна туберкулоза имаат сигнификантно повисоки вредности за дијаметарот на индурација, во однос на децата со латентна туберкулозна инфекција. Според граничните вредности за позитивен тест кај децата со или без BCG-белег, резултатите покажаа сигнификантно повисока фреквенција на позитивен наод на TST кај активната туберкулоза (88,9 %), во однос на децата со ЛТБИ (35,9 %) во групата испитаници со BCG-белег, додека кај испитаниците без белег, разликата во позитивните наоди меѓу двете групи е несигнификантна. Нашите анализи покажаа дека постои слаба до умерена позитивна корелација помеѓу возраста и дијаметарот на индурација на TST само кај децата со латентна туберкулозна инфекција, додека пак истата комплетно отсуствува во рамките на групата со активна туберкулоза.

Резултатите покажаа ниска сензитивност на TST за детекција на децата со латентна туберкулозна инфекција (50 %) и висока сензитивност за детекција на активната туберкулоза (91,7 %). Во студијата на Wong et al. од 2015 година е прикажана сензитивност од 62,5 % и специфичност 57,1 % на TST за дијагноза на активна туберкулоза кај децата вакцинирани со BCG [101]. Во студијата на Mori et al. во која се иследуваани студентите во Јапонија вакцинирани со BCG, TST има специфичност од 35,4 % за дијагноза на туберкулозна инфекција [65].

Во различни држави се употребуваат различни гранични вредности за позитивен TST. Во САД, индурацијата ≥ 5 mm се смета за позитивен тест, додека во Англија за позитивен тест кај децата вакцинирани со BCG се смета индурација ≥ 15 mm [102,103].

Во оваа студија беше извршена и анализа за предлагање на нова гранична дијагностичка вредност на TST за дискриминација помеѓу децата со латентна туберкулозна инфекција и активна туберкулоза, кои се однесуваат на испитаниците за Република Македонија. Во рамките на испитаниците со белег, ROC-анализата ја посочи вредноста од $\geq 16,5$ mm како оптимална за дискриминација помеѓу децата со ЛТБИ и оние со активна ТБЦ, со 83,3 % сензитивност и 76,9 % специфичност. Во рамките на испитаниците без белег со анализата

е добиена вредноста од $\geq 11,5$ mm за детекција на активната ТБЦ, со 83,3 % сензитивност и за жал, ниска специфичност од 60 %.

Статистичките анализи покажаа дека постои умерена до силна позитивна корелација помеѓу дијаметарот на индурација на TST и нивоата на IFN- γ измерени преку *Quantiferon TB gold* тестот, со високо ниво на сигнификантност, што укажува на фактот дека при добиен повисок дијаметар на индурација, се очекува да се добијат и повисоки нивоа на IFN- γ . Ваквата корелација беше посилна и поочигледна кај децата со активна туберкулоза. Во повеќе студии е прикажана добра корелација помеѓу индурацијата на TST и вредностите на *Quantiferon TB gold* тестот.[104,105]. Onur et al. во својата студија објавуваат дека процентот на позитивни резултати на IFN- γ е сигнификантно поголем кај децата со дијаметар на индурација на TST од 10 до 14 mm и ≥ 15 mm. [106].

Во друга студија (Ferrara et al.) во која се опфатени деца и возрасни, добиена е добра корелација помеѓу TST и *Quantiferon TB gold* тестот. Оваа корелација била послаба кај групата вакцинирана со BCG, што укажува дека IGRA-тестовите имаат поголема специфичност[107]. Johnson et al. не докажале сигнификантна корелација помеѓу резултатите од двата теста [108]. Во друга студија пак, (Dogra et al.) се опишува позитивната корелација и совпаѓањето на резултатите од TST и QFT, а вакцинацијата со BCG немала влијание на двата теста[109].

Најважен фактор за инфекција со *M. tuberculosis* е долготраен близок контакт со возрасен болен од активна белодробна туберкулоза. Во нашата студија беше направена и споредба на вредностите на TST и на IFN- γ во зависност од контактот со болен од туберкулоза. Анализите покажаа дека испитаниците со близок контакт имаат сигнификантно повисок дијаметар на индурација на TST, како и сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ во однос на оние со далечен контакт. Овие резултати се совпаѓаат со податоците од литературата. Во студијата на Lewinsohn et al. се утврдени повисоки вредности на IFN- γ кај децата што биле во близок контакт со болен од туберкулоза, ARB позитивен. [110]. Leung укажува дека многу важни фактори се интрафамилијарниот контакт со болниот во домот, особено ноќе, а исто така и наодот од над 100 ацидо-алкохолорезистентни бацили во видното поле на размаска од спутум од болниот[111].

Анализата на резултатите од нашето истражување ја потврди хипотезата, дека Quantiferon TB gold тестот е поефикасен од другите дијагностички процедури достапни во Р Македонија во поставувањето дијагноза на туберкулозна инфекција во детската возраст, посебно при поставувањето дијагноза на ЛТБИ. Нашите резултати покажаа дека Quantiferon TB gold тестот има повисока сензитивност за детекција на децата со латентна туберкулозна инфекција во однос на здравите контроли; додека пак, TST е посензитивен за детекција на децата со активна туберкулоза во однос на децата со ЛТБИ. Анализите покажаа совпаѓање на резултатите од двата теста во 71 % од испитаниците, со тоа што TST(+) / IFN- γ (+) совпаѓање кај 53 %, а TST(-) / IFN- γ (-) кај 18 %. Овој процент на совпаѓање е малку понизок во споредба со резултатите од други студии (Kampmann et al. 86 %) [112] и Connel et al. (75 %) [88]). Во студијата на Bianchi et al. [113] е добиено интермедиерно совпаѓање на вкупните резултати, но многу добра согласност на IGRA резултатите со дијагнозата на активна ТБЦ.

Кога ги анализиравме засебно двете групи деца, најголем процент на совпаѓање на позитивните резултати од двата теста имавме во групата деца со активна ТБЦ (77,8 %). Во оваа група само кај три деца (8,4 %) имавме негативни резултати од двата теста, а кај 13,8 % се покажа TST(+)/IFN- γ (-) несовпаѓање на резултатите. Ваквите резултати се во согласност со поголемата сензитивност на TST во дијагнозата на активна ТБЦ. Според водичот со инструкции за употреба на QFT објавен од Мазурек и др. (Mazurek et al.) во 2004 година, ниту со QFT, ниту со TST не може да се разликува ЛТБИ од активна ТБЦ. Затоа ја потенцираат важноста на клиничките симптоми, радиолошките и микробиолошките наоди. Негативните резултати од TST и QFT не ја исклучуваат дијагнозата на активна ТБЦ[114]. Во нашата студија кај сите деца со активна ТБЦ, докажана клинички, радиолошки или културелно, без разлика на наодот од TST или QFT, беше спроведена соодветна антитуберкулозна терапија. Кај децата со негативни резултати од двата теста, едно беше со ARB и културелно позитивна белодробна туберкулоза, другото дете беше со плеврален излив, докажан со ензимолошка анализа на плеврален пунктат и серум. Третото дете беше со радиолошки промени сомнителни за примарна белодробна ТБЦ, со позитивен контакт со болен од активна ТБЦ. Кај ова дете поради неповолен одговор на неспецифичната антибиотска терапија, беше спроведен т.н. хемиотерапевтски тест, односно беше поставено на антитуберкулозна терапија, со добар

клинички одговор и регресија на радиолошкиот наод. Со тоа беше потврдена дијагнозата на активна ТБЦ.

Во групата деца со ЛТБИ, кај 39 % двата теста беа позитивни, со што беше потврдена ЛТБИ. Кај 15 деца (23,5 %) имавме совпаѓање на негативни резултати од двата теста. Кај шест од овие деца, кои беа на возраст над 5 години, беше исклучена дијагнозата ЛТБИ, а останатите, бидејќи беа на возраст под 5 години и со близок контакт со болен од активна ТБЦ, беа поставени на соодветна медикаментозна превенција. Несовпаѓање на резултатите се покажа во 37,5 % од децата, и тоа TST(+) / IFN- γ (-) кај 12,5 %, додека кај 25 % од децата имавме TST(-) / IFN- γ (+) несовпаѓање на резултатите. Ваквите резултати би значеле дека во 37 % од испитаниците еден од двата теста е лажно негативен или лажно позитивен. Интерпретацијата на резултатите е наједноставна кога двата теста се позитивни или негативни, односно дијагнозата на ЛТБИ на тој начин е потврдена или исклучена. При TST позитивно / IGRA негативно несовпаѓање, најверојатно се работи за лажно позитивен TST, иако е можно да биде лажно негативен IGRA-тест. Лажно позитивниот TST би можело да се должи на неговата помала специфичност во дијагнозата на ЛТБИ. Бидејќи PPD содржи повеќе од 200 антигенски компоненти кои се заеднички за повеќето микобактерии, ограничување на овој тест е што не разликува инфекција со *M. tuberculosis* од инфекција со други нетуберкулозни микобактерии [11]. Бидејќи сите наши испитаници примиле вакцина BCG, можни се лажно позитивни наоди на TST.

Лажно негативниот тест IGRA може да се должи на имунокомпромитираната состојба на пациентот или грешка во собирањето крв за анализа. Во овие случаи потребно е сериско одредување на концентрацијата на IFN- γ за да се утврди дали е навистина лажно негативен IGRA во случај на конверзија на резултатот во позитивен [115]. Се препорачува да се повтори IGRA-тестот за 8-10 недели по завршување на контактот со болниот од туберкулоза.[114]. За конверзија на IFN- γ се работи ако се задоволени два критериума: промената на вредноста од негативна во позитивна и пораст на концентрацијата за најмалку 30 % од почетната (Veerapathran et al.) [35]. Исто така, била предложена примена на несигурен интервал на концентрација на IFN- γ за интерпретација на сериско тестирање во распон од 0,20 – 0,50 IU/ml (Pai et al.). Тоа значи дека вредностите на IFN- γ <0,20 IU/mL и >0,50 IU/mL се вистински негативни и позитивни, а промената на

концентрацијата на IFN- γ во овој интервал се смета за „несигурна конверзија“ и „несигурна реверзија“ [116].

Ringshausen et al. во својата студија примениле распон на концентрација IFN- γ од 0,20 – 0,70 IU/mL како граничен распон, а порастот на концентрацијата IFN- γ од негативна < 0,35 IU/mL на вредност $\geq 0,70$ IU/mL ја дефинирале како вистинска конверзија [117].

Кај TST негативно/IGRA позитивно несовапаѓање, многу веројатно се работи за ЛТБИ, а туберкулинскиот тест е лажно негативен. Несовапаѓањето на резултатите од двата теста може да е резултат на различните имунолошки механизми одговорни за позитивен TST или IGRA-тест. IGRA-тестовите, заради кусиот период на инкубација на клетките со специфични антигени, ја одредуваат активноста на ефекторските Т-лимфоцити и го мерат ослободувањето на само еден цитокин - IFN- γ . За разлика од нив, со TST се одредува активноста на ефекторските и мемориските Т-лимфоцити и се мери реакцијата која е последица на делување не само на IFN- γ , туку и на интерлеукините (IL) IL-10, IL-12, IL-23, TNF- α и гранулоцитно-стимулирачкиот фактор (granulocyte colony-stimulating factor G-CSF). Според некои автори, позитивниот IGRA-тест би можел да индицира скорешна или актуелна инфекција со туберкулозни бацили, а позитивниот TST би индицирал постара инфекција [118,119].

Во ова истражување само кај две деца (едно во групата здрави контроли, едно во групата на активна ТБЦ) добивме индетерминирани резултати за Quantiferon TB gold тестот, кога не е можно да се одреди концентрацијата на IFN- γ . И двете деца беа на возраст под 2 години. До индетерминирани резултати најчесто доведуваат техничките грешки при изведување на тестот, а како причина се наведува и малата возраст. Во студијата на Bergamini et al. се прикажани 21,5 % индетерминирани резултати кај деца помали од 4 години, во однос на 0,4 % кај постарите деца [120]. Според некои автори постои поврзаност меѓу возраста и производството на IFN- γ , а во помалата возраст е поголема веројатноста од неодредени резултати кај имунокомпетентни деца. [121,122].

Според препораките на СЗО и центрите за контрола и превенција на болести (Centers for disease control and prevention-CDC), лицата што се HIV позитивни и децата под 5-годишна возраст, кои имаат близок интрафамилијарен контакт со болен од ТБЦ, а имаат негативен TST и IGRA-тест, треба да се третираат за ЛТБИ, а по 8-10 недели да се повтори TST или

IGRA. Ако дошло до конверзија на тестот во позитивен, медикаментозната превенција треба да продолжи, а ако е повторно негативен, истата би можела да се прекине [124-126]. Под претпоставка дека IGRA-тестовите имаат поголема сензитивност и специфичност во дијагнозата на ЛТБИ, судејќи само според резултатот на TST, може да се заклучи дека 16 деца (25 %) во нашата студија не би ја примиле потребната медикаментозна превенција, а кај 8 деца (12,5 %), истата непотребно би се спровела. Најубедлив доказ за поголема специфичност на IGRA-тестовите би било следење на децата што имаат позитивен TST а негативен IGRA-тест, без спроведување медикаментозна превенција. Секако, ваквите студии се ретки. Ling et al. [127] истражувале како клиничарите во Монреал ги користат резултатите од IGRA-тестовите. Од 55 деца, во контакт со ТБЦ, со негативен IGRA, а позитивен TST, кај 52 била спроведена медикаментозна превенција со изонијазид. Од 200 деца кои биле тестирани на училиште во склоп на скрининг за туберкулоза, а имале позитивен TST и негативен IGRA, кај 145 не била спроведена превенција и ни едно дете не развило активна туберкулоза во текот на периодот на следење. Резултатите од едно истражување (Higuchi et al.) [128] кај училишните деца што биле во контакт со болен од активна ТБЦ, а имаат TST (+)/ IGRA (-) несовпаѓање на тестовите, не би требало да се спроведува медикаментозна превенција. Во проспективното следење на овие деца во текот на 3,5 години, иако не биле превенирани, ниту едно дете не развило активна туберкулоза. Во студијата спроведена на 106 деца, во контакт со ТБЦ, се покажало дека IGRA-тестот има 100 % негативна предиктивна вредност, бидејќи ни едно дете со негативен IGRA во периодот на следење од 3,7 години не развило болест, иако не примале медикаментозна превенција (Diel et al.) [97].

Нашите резултатите покажуваат дека кај најголем дел од децата со латентна туберкулозна инфекција беше спроведена медикаментозна превенција, и тоа кај 39,1 % со изонијазид во период од 6 месеци, а кај 45,3 % со изонијазид/рифампицин во период од 3 месеци. Кај 10 деца (15,6 %) истата не беше спроведена. Шест од нив беа со негативен IFN- γ и TST, а четири деца имаа TST (+)/ IGRA (-) несовпаѓање на резултатите. Децата беа на возраст над 5 години. Кај овие деца, по период од 8 недели беше повторен IGRA-тестот и повторно беше негативен. Со тоа беше исклучена ЛТБИ. Сите деца со потврдена ЛТБИ, како и оние кај кои дијагнозата беше исклучена, се следат во нашиот институт и кај ниту едно дете во период од две години не дојде до развој на активна туберкулоза. Одлуката,

дали да се превенира дете со TST (+)/ IGRA (-) несовпаѓање, сепак треба да се заснова на клиничката проценка, возраста, социјалниот статус и степенот на изложеност на активна ТБЦ. Со ова се докажува практичната примена на IGRA-тестовите за попрецизна дијагноза на ЛТБИ во детската возраст. Во отсуство на златен стандард за дијагноза на ЛТБИ, одредувањето на концентрацијата на IFN- γ заедно со TST би било од голема помош во одлуката дали кај некое дете да се примени медикаментозна превенција и покрај негативен TST, или врз основа на негативен тест IGRA кај децата со позитивен TST, да се избегне непотребната медикаментозна превенција.

7. ЗАКЛУЧОЦИ

- 1) Децата со ЛТБИ и децата со активна ТБЦ имаат сигнификантно повисоки вредности на IFN- γ во однос на здравите контроли. Докажавме и статистички сигнификантно повисоки вредности на IFN- γ кај децата со активна ТБЦ, во однос на оние со ЛТБИ,
- 2) IFN- γ тестот за дадената гранична вредност од 0,35 IU/mL има 64 % сензитивност и 100 % специфичност за детекција на ЛТБИ, а 80,6 % сензитивност и 100 % специфичност за детекција на активна туберкулозна инфекција.
- 3) Вредноста на IFN- $\gamma \geq 0,252$ IU/mL е оптимална гранична вредност за дискриминација помеѓу здравите контроли и децата со ЛТБИ, со 82,4 % сензитивност и 81,8 % специфичност. Вредноста од $\geq 0,822$ IU/mL IFN- γ е оптимална за дискриминација помеѓу децата со ЛТБИ и оние со активна ТБЦ, со 74,3 % сензитивност и 67,2 % специфичност,
- 4) Постои слаба, но позитивна корелација помеѓу возраста и концентрацијата на IFN- γ кај децата со ЛТБИ, додека пак истата отсутува во рамките на групата со активна ТБЦ. Децата над 5 години имаат сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ , во однос на оние под 5 години.
- 5) Децата со активна ТБЦ имаат сигнификантно повисоки вредности за дијаметарот на индурација на TST во однос на оние со ЛТБИ.
- 6) TST има ниска сензитивност за детекција на децата со ЛТБИ (50 %) и висока сензитивност за детекција на активната туберкулоза (91,7 %).

- 7) Во рамките на испитаниците со BCG-белег, граничната вредност од $\geq 16,5$ mm е оптимална за дискриминација помеѓу децата со ЛТБИ и активна ТБЦ, со 83,3 % сензитивност и 76,9 % специфичност, а во рамки на испитаниците без BCG-белег, вредноста од $\geq 11,5$ mm, со 83,3 % сензитивност.
- 8) Докажавме умерена до силна корелација помеѓу TST и нивоата на IFN- γ со високо ниво на сигнификантност.
- 9) Анализите покажаа совпаѓање на резултатите од двата теста во 71 % од испитаниците, со тоа што TST(+) / IFN- γ (+) совпаѓање кај 53 %, а TST(-) / IFN- γ (-) кај 18 %. Најголем процент на совпаѓање на позитивните резултати од двата теста имавме во групата на деца со активна ТБЦ.
- 10) Испитаниците со близок контакт имаат сигнификантно повисоки нивоа на IFN- γ и повисок дијаметар на индурација при TST во однос на оние со далечен контакт.
- 11) Кај сите деца со активна ТБЦ, докажана клинички, радиолошки или културелно, без разлика на наодот од TST или QFT, беше спроведена соодветна антитуберкулозна терапија.
- 12) Одредувањето на концентрацијата на IFN- γ заедно со TST има голем придонес во одлуката за медикаментозна превенција кај децата со ЛТБИ, односно дали кај некое дете ќе се примени превенција и покрај негативниот TST, или врз основа на негативен IGRA-тест кај децата со позитивен TST ќе се избегне истата.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Smith I. *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis and molecular determinants of virulence. Clin Microbiol Rev. 2003; 16 (3):463-496.
2. Daniel TM. The history of tuberculosis. Respir Med. 2006; 100(11):1862-1870.
3. Daniel TM. Pioneers of medicine and their impact on tuberculosis. Rochester, NY: University of Rochester Press; 2000.
4. Mangtani P, Abubakar I, Ariti C, Beynon R, Pimpin L, Fine PE, et al. Protection by BCG vaccine against tuberculosis: a systematic review of randomized controlled trials. Clin Infect Dis. 2014;58(4):470-80.
5. Trunz BB, Fine P, Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of costeffectiveness. Lancet. 2006;367(9517):1173-80.
6. Pereira SM, Dantas OM, Ximenes R, Barreto ML. BCG vaccine against tuberculosis: its protective effect and vaccination policies. Rev Saude Publica. 2007;41 Suppl 1:59-66.
7. Kelekci S, Karabel M, Karabel D, Hamidi C, Hosoglu S, Gurkan MF, et al. Bacillus Calmette-Guerin is a preventive factor in mortality of childhood tuberculous meningitis. Int J Infect Dis. 2014; 21:1-4.
8. WHO Report 2011 Global Tuberculosis Control
9. WHO Global Tuberculosis Report 2014. Geneva: 2015.
10. WHO Global Tuberculosis Report 2018
11. Rothel SJ, Andersen P. Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: is the demise of the Mantoux test imminent? Expert Rev Anti Infect Ther. 2005;3: 981-93.
12. Shingadia D, Novelli V. Diagnosis and treatment of tuberculosis in children. Lancet Infect Dis 2003;3: 624-32.
13. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, et all. The natural history of childhood intrathoracic tuberculosis: a critical review of literature from the prechemotherapy era. Int J Tuberc Lung Dis. 2004; 8:392-402.

14. Marais BJ, Pai M. Recent advances in the diagnosis of childhood tuberculosis. *Arch Dis Child*. 2007;92: 446-52.
15. Kodmon C. Evaluation and use of the laboratory methods in diagnosis and control of tuberculosis. Szeged, 2011.
16. Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M, Brodin P, Buchrieser C, Eiglmeier K, et al. A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(6):3684-9.
17. Wenwei L. Identifying novel survival mechanisms of Mycobacterium tuberculosis within its host. 2013.
18. Young DB, Kaufmann SH, Hermans PW, Thole JE. Mycobacterial protein antigens: a compilation. *Mol Microbiol* 1992;6: 133-45.
19. Andersen P, Askgaard D, Ljungquist L, Bennedsen J, Heron I. Proteins released from Mycobacterium tuberculosis during growth. *Infect Immun* 1991;59: 1905-10.
20. Dietrich J, Doherty TM. Interaction of Mycobacterium tuberculosis with the host: consequences for vaccine development. *APMIS* 2009; 117: 440–57.
21. Rook GA, Zumla A. Advances in the immunopathogenesis of pulmonary tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med* 2001;7: 116-23.
22. Van Crevel R, Ottenhoff THM, van der Meer JWM. Innate immunity to Mycobacterium tuberculosis. *Clin Microbiol Rev* 2002;15: 294-309.
23. Jo EK, Yang SC, Choi CH, et al. Intracellular signalling cascades regulating innate immune response to mycobacteria: branching out from Toll-like receptors. *Cellular Microbiology* 2007;9: 1087-98.
24. Teixeira LK, Fonseca BPF, Barboza BA, et al. The role of interferon- γ on immune and allergic responses. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005;100(Suppl 1):137-44.
25. de Jonge MI, Pehau-Arnaudet G, Fretz MM, et al. ESAT-6 from Mycobacterium tuberculosis dissociates from its putative chaperone CFP-10 under acidic conditions and exhibits membrane-lysing activity. *J Bacteriology* 2007;189: 6028-34.
26. Cardona PJ. A dynamic reinfection hypothesis of latent tuberculosis infection. *Infection* 2009;37: 80-6.
27. Wiker HG, Mustafa T, Bjune GA, Harboe M. Evidence for waning of latency in a cohort study of tuberculosis. *BMC Infect Dis* 2010;10: 1-10.

28. American Thoracic Society. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 161. pp 1376-1395, 2000.
29. Јаковски Љ, Белодробна туберкулоза во детската возраст. Нова Македонија, Скопје, 1996.
30. Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, Gottschalk R, Nienhaus A. Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold InTube assay, and T-Spot. TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest* 2009;135: 1010-8.
31. Lalvani A, Thillai M. Diagnosis of tuberculosis: principles and practice of using interferon- γ release assays (IGRAs). *Breathe* 2009;5: 303-9.
32. Andersen P, Munk ME, Doherty TM, et all. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000;356: 1099-104.
33. Chun JK, Kim CK, Kim HS, i sur. The role of whole blood interferon gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in bacille Calmette-Guerin vaccinated children. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;62: 389-94.
34. Pai M, Zwerlig A, Menzies D. Systematic review: T-cell based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection – an update. *Ann Intern Med* 2008;149: 177-84.
35. Veerapathran A, Joshi R, Goswami K, i sur. T-cell assays for tuberculosis infection: Deriving cut-offs for conversion using reproducibility data. *PloS ONE* 2008;3: e850.
36. Diel R, Goletti D, Ferrara G, i sur. Interferon- γ release assays for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: a systematic review and metaanalysis. *Eur Respir J* 2011;37: 88-99.
37. Starke JR. Tuberculosis in children. *Semin Respir Crit Care Med* 2004; 25:353-64.
38. Marais BJ, Gie RP, Hesselning AC, et all. A refined symptom-based approach to diagnose pulmonary tuberculosis in children. *Pediatrics* 2006;118: 1350-9.
39. Katalinić-Janković V. Novosti u mikrobiološkoj dijagnostici tuberkuloze. U: Dodig S, Zrinski Topić R, ur. Tuberkulozna infekcija u djece. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu-Medicinski fakultet, Dječja bolnica Srebrnjak; 2009, str. 11-3.
40. Starke JR: Pediatric tuberculosis: time for a new approach. *Tuberculosis* 2003;83:208-12.
41. Theart AC, Marais BJ, Gie RP, Hesselning AC, Beyers N. Criteria used for the diagnosis of childhood tuberculosis at primary health care level in a high-burden urban setting. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; 5:594-603.

42. Balabanić-Kamauf B. Mikrobiološke pretrage tuberkuloze i pneumonija. U: Peroš-Golubičić T, Pavlović M, ur. Tuberkuloza, pneumonija, pneumonitisupalne bolesti plućnog parenhima. Zagreb: Medicinska naklada; 2002, str. 21-34.
43. Weismuller MM, Graham SM, Claessens NJ, Meijnen S, Salaniponi FM, Harries AD. Diagnosis of childhood tuberculosis in Malawi: an audit of hospital practice. In J Tuberc Lung Dis 2002;5: 432-8.
44. Milkovic Dj, Richter D, Zoricic-Letoja I, Raos M, Koncul I. Chest radiography findings in primary pulmonary tuberculosis in children. Coll Antropol 2005;29: 271-6.
45. Kim WX, Choi JI, Cheon JE, Kim IO, Yeon KM, Lee HJ. Pulmonary tuberculosis in infants: radiographic and CT findings. Am J Roentgenol 2006;187: 1024-33.
46. Harris MJ. Characterization of drug resistance in Mycobacterium Tuberculosis via saturating mutagenesis of drug targets. 2012.
47. Beyers N, R.P. Gie, H. S. Schaaf et al.1997.A prospective evaluation of children under the age of 5 years living in the same household as adults with recently diagnosed pulmonary tuberculosis. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease 1(1): 38–43.
48. Razali NM, Wah YB. Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. Journal of Statistical Modeling and Analytics, 2011; 2(1): 21-33.
49. Shapiro SS, Wilk MB. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). Biometrika, 1965; 52(3/4): 591-611.
50. Gatahun H, Mateelli A, Chaisson RE, Raviglione M. Latent Mycobacterium tuberculosis infection. Engl J Med.2015;372(22):2127-35
51. Wang L, Turner MO, Elwood RK, et al. A meta-analysis of the effect of Bacille Calmette Guerin vaccination on tuberculin skin test measurements. Thorax. 2002;57(9): 804–809.
52. World Health Organization. 2014. Guidance for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children, 2nd ed. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

53. Berti E, Galli L, Venturini E, de Martini M, Chiappini E. 2014. Tuberculosis in childhood: a systematic review of national and international guidelines. *BMC Infect Dis* 14(Suppl 1): S3
54. Kumar MK, Kumar P, Singh A. 2015. Recent advances in the diagnosis and treatment of childhood tuberculosis. *J Nat Sci Biol Med* 6:314–320
55. Müller NL, Franquet T, Lee KS et-al. Imaging of pulmonary infections. Lippincott Williams & Wilkins. (2007) ISBN:078177232X
56. Collins J, Stern EJ. Chest radiology, the essentials. Lippincott Williams & Wilkins. (2007) ISBN:0781763142
57. Naidich DP, Srichai MB, Krinsky GA. Computed tomography and magnetic resonance of the thorax. Lippincott Williams & Wilkins. (2007) ISBN:0781757657
58. Kunkel A, Abel Zur Wiesch P, Nathavitharana RR, Marx FM, Jenkins HE, Cohen T. Smear positivity in paediatric and adult tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2016; 16:282. Published 2016 Jun 13. doi:10.1186/s12879-016-1617-9
59. Çakır E, Özdemir A, Daşkaya H, Umutoğlu T, Yüksel M. The value of nasopharyngeal aspirate, gastric aspirate and bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of childhood tuberculosis. *Turk J Pediatr* 2018; 60: 10-13.
60. World Health Organization. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Geneva: World Health Organization; 2013
61. Detjen AK, DiNardo AR, Leyden J, Steingart KR, Menzies D, Schiller I, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med*. 2015
62. Newton SM, Brent AJ, Anderson S, Whittaker E, Kampmann B. 2008. Paediatric tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 8:498–510
63. Lalvani A, Pathan AA, Durkan H, Wilkinson KA, Whelan A, Deeks JJ, Reece WH, Latif M, Pasvol G, Hill AV: Enhanced contact tracing and spatial tracking of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Lancet*. 2001, 357: 2017-2021. 10.1016/S0140-6736(00)05115-1.

64. Zellweger JP, Zellweger A, Ansermet S, de Senarclens B, Wrighton-Smith P: Contact tracing using a new T-cell-based test: better correlation with tuberculosis exposure than the tuberculin skin test. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005, 9: 1242-1247.
65. Mori, T., M. Sakatani, F. Yamagishi, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2004; 170(1): 59–64
66. Brock, I. 2004. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 170: 65–69
67. Kang, Y.A., H.W. Lee, H.I. Yoon, et al. 2005. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *Journal of the American Medical Association* 293(22): 2756–2761
68. Cheng TL, Ottolini MC, Baumhaft K, Brasseur C, Wolf MD, Scheidt PC. Strategies to increase adherence with tuberculosis test reading in a high-risk population. *Pediatrics.* 1997;100: 210–213. doi: 10.1542/peds.100.2.210
69. Whittaker E, Gordon A, Kampmann B. Is IP-10 a better biomarker for active and latent tuberculosis in children than IFN gamma? *PLoS One* 2008;3: e3901
70. Latorre I, De Souza-Galvao M, Ruiz-Manzano J, et al. Quantitative evaluation of T-cell response after specific antigen stimulation in active and latent tuberculosis infection in adults and children. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;65: 236-46
71. Lombardi G, Petrucci R, Corsini I, Bacchi Reggiani ML, Visciotti F, Bernardi F, Landini MP, Cazzato S, DalMonteP. 2018. Quantitative analysis of gamma interferon release assay response in children with latent and active tuberculosis. *J Clin Microbiol* 56: e01360-17.
72. Andrews JR, Nemes E, Tameris M, Landry BS, Mahomed H, McClain JB, Fletcher HA, Hanekom WA, Wood R, McShane H, Scriba TJ, Hatherill M. 2017. Serial QuantiFERON testing and tuberculosis disease risk among young children: an observational cohort study. *Lancet Respir Med* 5:282–290.
73. Connel 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.
74. Metcalfe JZ, Everett CK, Steingart KR, Cattamanchi A, Huang L, Hopewell PC, Pai M. 2011. Interferon-gamma release assays for active pulmonary tuberculosis diagnosis in adults in

- low- and middle-income countries: systematic review and meta-analysis. *J. Infect. Dis.* 204(Suppl 4): S1120–S1129.
75. Sester M, Sotgiu G, Lange C, Giehl C, Girardi E, Migliori GB, Bossink A, Dheda K, Diel R, Dominguez J, Lipman M, Nemeth J, Ravn P, Winkler S, Huitric E, Sandgren A, Manissero D. 2011. Interferon gamma release assays for the diagnosis of active tuberculosis: asystematic review and meta-analysis. *Eur. Respir. J.* 37:100–111
76. Santin M, Munoz L, Rigau D. 2012. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of tuberculosis and tuberculosis infection in HIVinfected adults: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 7: e32482.
77. Mandalakas AM, Detjen AK, Hesselning AC, Benedetti A, Menzies D. 2011. Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15:1018– 1032
78. Sun L, Xiao J, Miao Q, et al. Interferon gamma release assay in diagnosis of pediatric tuberculosis: a meta-analysis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2011;63(2):165–173
79. Chiappini E, Bonsignori F, Mazzantini R, Sollai S, Venturini E, Mangone G, Cortimiglia M, Olivito B, Azzari C, Galli L, de Martino M. 2014. Interferongamma release assay sensitivity in children younger than 5 years is insufficient to replace the use of tuberculin skin test in western countries. *Pediatr Infect Dis J* 33:1291–1293.
80. Laurenti P, Raponi M, de Waure C, Marino M, Ricciardi W, Damiani G. 2016. Performance of interferon release assays in the diagnosis of confirmed active tuberculosis in immunocompetent children: a new systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 16:131
81. Garazzino S, Galli L, Chiappini E, Pinon M, Bergamini BM, Cazzato S, Dal Monte P, Dodi I, Lancella L, Esposito S, Iughetti L, Montagnani C, De Martino M, Tovo PA, SITIP IGRA Study Group. 2014. Performance of interferon release assay for the diagnosis of active or latent tuberculosis in children in the first 2 years of age: a multicenter study of the Italian Society of Pediatric Infectious Diseases. *Pediatr Infect Dis J* 33: e226-31
82. Sali M, Buonsenso D, Goletti D, D'Alfonso P, Zumbo A, Fadda G, Sanguinetti M, Delogu G, Valentini P. 2015. Accuracy of QuantiFERON-TB Gold test for tuberculosis diagnosis in children. *PLoS One* 10: e0138952

83. Petrucci R, Lombardi G, Corsini I, Bacchi Reggiani ML, Visciotti F, Bernardi F, Landini MP, Cazzato S, Dal Monte P. 2017. Quantiferon-TB Gold In-Tube improves tuberculosis diagnosis in children. *Pediatr Infect Dis J* 36:44–49.
84. Harada, N. et al. (2008) Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection. *J Infect* 56, 348.
85. Yi L, Sasaki Y, Nagai H, et al. Evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus for Detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in Japan. *Sci Rep*. 2016;6: 30617. Published 2016 Jul 29. doi:10.1038/srep30617
86. Frenkel L, Bryson Y J. Ontogeny of phytohemagglutinin- induced gamma interferon by leukocytes of healthy infants and children: evidence for decreased production in infants younger than 2 months of age. *J Pediatr* 1987. 111:97–100.
87. Miyawaki T, Seki H, Taga K. *et al* Dissociated production of interleukin- 2 and immune (gamma) interferon by phytohaemagglutinin stimulated lymphocytes in healthy infants. *Clin Exp Immunol* 1985.59:505–511.
88. Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC, et al. Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* in children. *Thorax*. 2006;61: 616–620
89. Nakaoka H., Lawson L. Risk for tuberculosis among children. *Emerging Infectious Diseases*. 2006; 12(9): 1383–1388
90. Ulrichs T, Anding P, Porcelli S, Kaufmann SH, Munk ME. Increased numbers of ESAT-6 and purified protein derivative-specific gamma interferon-producing cells in subclinical and active tuberculosis infection. *Infection and Immunity*.2000;68(10): 6073–6076.
91. Rieder, H.L. 1999. Epidemiological basis of TB control, 26 –43. Paris: International Union against Tuberculosis and Lung Disease
92. Almeida LM, Barbieri MA, Da Paixao AC, Cuevas LE: Use of purified protein derivative to assess the risk of infection in children in close contact with adults with tuberculosis in a population with high Calmette-Guerin bacillus coverage. *Pediatr Infect Dis J*. 2001, 20: 1061-1065
93. Lienhardt C, Fielding K, Sillah J, Tunkara A, Donkor S, Manneh K, Warndorff D, McAdam KP, Bennett S: Risk factors for tuberculosis infection in sub-Saharan Africa: a contact study in the Gambia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003, 168: 448-455

94. Rutherford ME, Hill PC, Maharani W, Apriani L, Sampurno H, van Crevel R, Ruslami R: Risk factors for Mycobacterium tuberculosis infection in Indonesian children living with a sputum smear-positive case. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2012, 16: 1594-1599
95. Lodha R, Mukherjee A, Saini D, Saini S, Singh V, Singh S, Grewal HM, Kabra SK, Delhi TBSG: Role of the QuantiFERON[®]-TB Gold In-Tube test in the diagnosis of intrathoracic childhood tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013, 17: 1383-1388
96. Kasambira TS, Shah M, Adrian PV, Holshouser M, Madhi SA, Chaisson RE, Martinson NA, Dorman SE: QuantiFERON-TB Gold In-Tube for the detection of Mycobacterium tuberculosis infection in children with household tuberculosis contact. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2011, 15: 628-634
97. Diel R, Loddenkemper R, Niemann S, Meywald-Walter K, Nienhaus A: Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon-gamma release assay for developing active tuberculosis: an update. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011, 183: 88-95
98. Critselis E, Amanatidou V, Syridou G, Spyridis NP, Mavrikou M, Papadopoulos NG, Tsolia MN: The effect of age on whole blood interferon-gamma release assay response among children investigated for latent tuberculosis infection. *J Pediatr.* 2012, 161: 632-638
99. Farhat M, Greenaway C, Pai M, Menzies D. 2006. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and nontuberculous mycobacteria? *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 10:1192–1204
100. Програма за задолжителна имунизација на населението во Р. Македонија за 2015 година. Службен весник на РМ, бр. 194 од 25.12.2014 година
101. Wong K-S, et al., Diagnostic utility of QuantiFERON[®]TB Gold In-Tube test in pediatric tuberculosis disease in Taiwanese children, *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2015.07.012>
102. American Thoracic Society. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161: S221–47.
103. National Collaborating Centre for Chronic Conditions. Tuberculosis: Clinical diagnosis and management of tuberculosis, and measures for its prevention and control. London: Royal College of Physicians; 2006

104. Pottumarthy, S., A.J. Morris, A.C. Harrison, et al. 1999. Evaluation of the tuberculin γ interferon assay: potential to replace the Mantoux skin test. *Journal of Clinical Microbiology* 37: 3229–3232.
105. Converse, P.J., S.L. Jones, and J. Astemborski. 1997. Comparison of a tuberculin interferon-gamma assay with the tuberculin skin test in high-risk adults: effect of human immunodeficiency virus infection. *Journal of Infectious Diseases* 176(1): 144–150.
106. Onur H, Hatipoglu S, Anca V, Hatipoglu N, Arica SG (2012) Comparison of quantiferon test with tuberculin skin test for the detection of tuberculosis infection in children. *Inflammation* 35: 1518–1524.
107. Ferrara G, Losi M, D’Amico R, et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study. *Lancet*. 2006;367: 1328–1334
108. Johnson, P.D.R., R.L. Stuart, and M.L. Grayson. 1999. Tuberculin-purified protein derivative-, MPT-64, ESAT-6-stimulated gamma interferon responses in medical students before and after *Mycobacterium bovis* BCG vaccination and in patients with tuberculosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 6: 934–937
109. Dogra S, Narang P, Mendiratta DK, 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*. 2007;54: 267–276.
110. Lewinsohn DA, Zalwango S, Stein CM, et al. Whole blood interferon-gamma responses to *Mycobacterium tuberculosis* antigens in young household contacts of persons with tuberculosis in Uganda. *PLoS ONE* 2008;3: 3407. Doi :10. 1371/journal.pone.0003407
111. Leung CC. Screening contacts of tuberculosis overcoming obstacles with an old tool. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177: 939-40.
112. Kampmann B, Whittaker E, Williams A, et al. Interferon- γ release assays do not identify more children with active tuberculosis than tuberculin skin test. *Eur Resp J* 2009;33: 1374-82
113. Bianchi L, Galli L, Moriondo M, et al. Interferon-gamma release assay improves the diagnosis of tuberculosis in children. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28: 510-4
114. Mazurek, G.H., J. Jereb, P. Lobue, et al. 2005. Division of Tuberculosis Elimination, National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Centers for Disease Control and Prevention

- (CDC). Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. *MMWR Recommendations and Reports* 54(RR-15): 49–55.
115. Kobashi Y, Mouri K, Obase Y, i sur. Clinical evaluation of QuantiFERON TB2G test for immunocompromised patients. *Eur Respir J* 2007;30: 945-50
116. Pai M, Joshi R, Dogra S, i sur. T-cell assay conversions and reversions among household contacts of tuberculosis patients in rural India. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009;13: 84-92.
117. Ringshausen FC, Nienhaus A, Schablon A, Schlö sser S, Schultze-Werninghaus G, Rohde G. Predictors of persistently positive *Mycobacterium tuberculosis* specific interferon-gamma responses in the serial testing of health care workers. *BMC Infect Dis* 2010;10: 220
118. Porsa E, Cheng L, Seale MM, et al. Comparison of a new ESAT-6/CFP-10 peptide-based gamma interferon assay and a tuberculin skin test for tuberculosis screening in a moderate-risk population. *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13: 53–58
119. Tsiouris SJ, Coetzee D, Toro PL, et al. Sensitivity analysis and potential uses of a novel gamma interferon release assay for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 2006;44: 2844–2850
120. Bergamini BM, Losi M, Vaienti F, i sur. Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Pediatrics* 2009; 123:419-24
121. Lighter J, Rigaud M, Eduardo R, i sur. Latent tuberculosis diagnosis in children by using QuantiFERON-TB Gold In-tube test. *Pediatrics* 2009;123: 30-7
122. Hausteин T, Ridout DA, Hartley JC, i sur. The likelihood of an indeterminate test result from a whole-blood interferon- γ release assay for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children correlates with age and immune status. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28: 669-73
123. Правилник за имунопрофикакса, хемиопрофикакса, лица кои подлежат на овие мерки, начин на изведување и водење на евиденција. Службен весник на Р.Македонија бр.65, Мај 2010 година.
124. Guidelines on the management of latent tuberculosis infection. Geneva, Switzerland: WHO, 2015.
125. American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 161 (4 pt 2): S221-S247. PMID:10764341

126. Centers for Disease Control and Prevention CDC. Latent tuberculosis infection: A guide for primary health care providers. MMWR, 2013.
127. Ling DI, Crépeau CA, Dufresne M, et al. Evaluation of the impact of interferon gamma release assays on the management of childhood tuberculosis. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31(12):1258–1262
128. Higuchi K, Harada N, Mori T, et al. Use of QuantiFERON-TB Gold to investigate tuberculosis contacts in a high school. *Respirology* 2007;12: 88-92
129. Sundaramurthy V, Pieters J. Interactions of pathogenic mycobacteria with host macrophages. *Microbes Infect* 2007;9: 1671-9. 47
130. Young DB, Gideon HP, Wilkinson RJ. Eliminating latent tuberculosis. *Trends Microbiol* 2009; 17:193–8. 48
131. Barry CE, Boshoff HI, Dartois V, et al. The spectrum of latent tuberculosis: rethinking the biology and intervention strategies. *Nat Rev Microbiol* 2009;7: 845–55.
132. Marais B, Schaaf HS. Tuberculosis in children. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014;4: a017855