

FIMPAGGIORNA 2008

La tubercolosi: un approccio stocastico

- La Mantoux
- La classificazione e i percorsi assistenziali
 - La diagnosi
- La linfadenomegalia Mantoux-positiva.

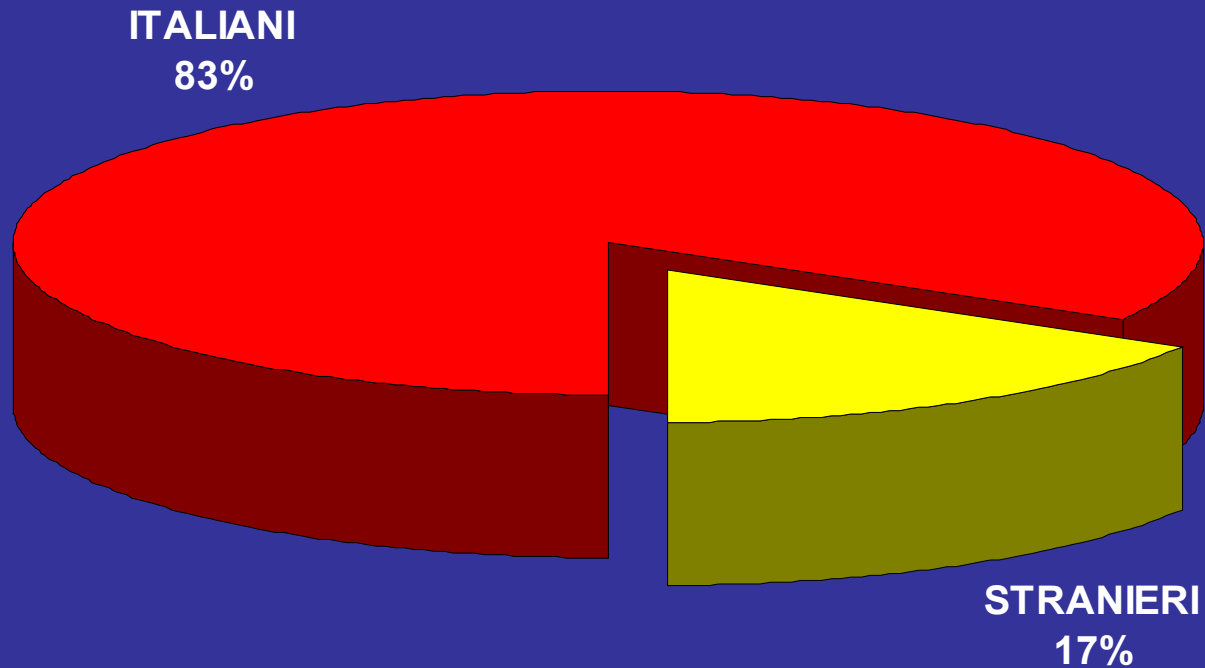
Alfredo Guarino

Dipartimento di Pediatria

Università Federico II, Napoli

8 maggio 2008

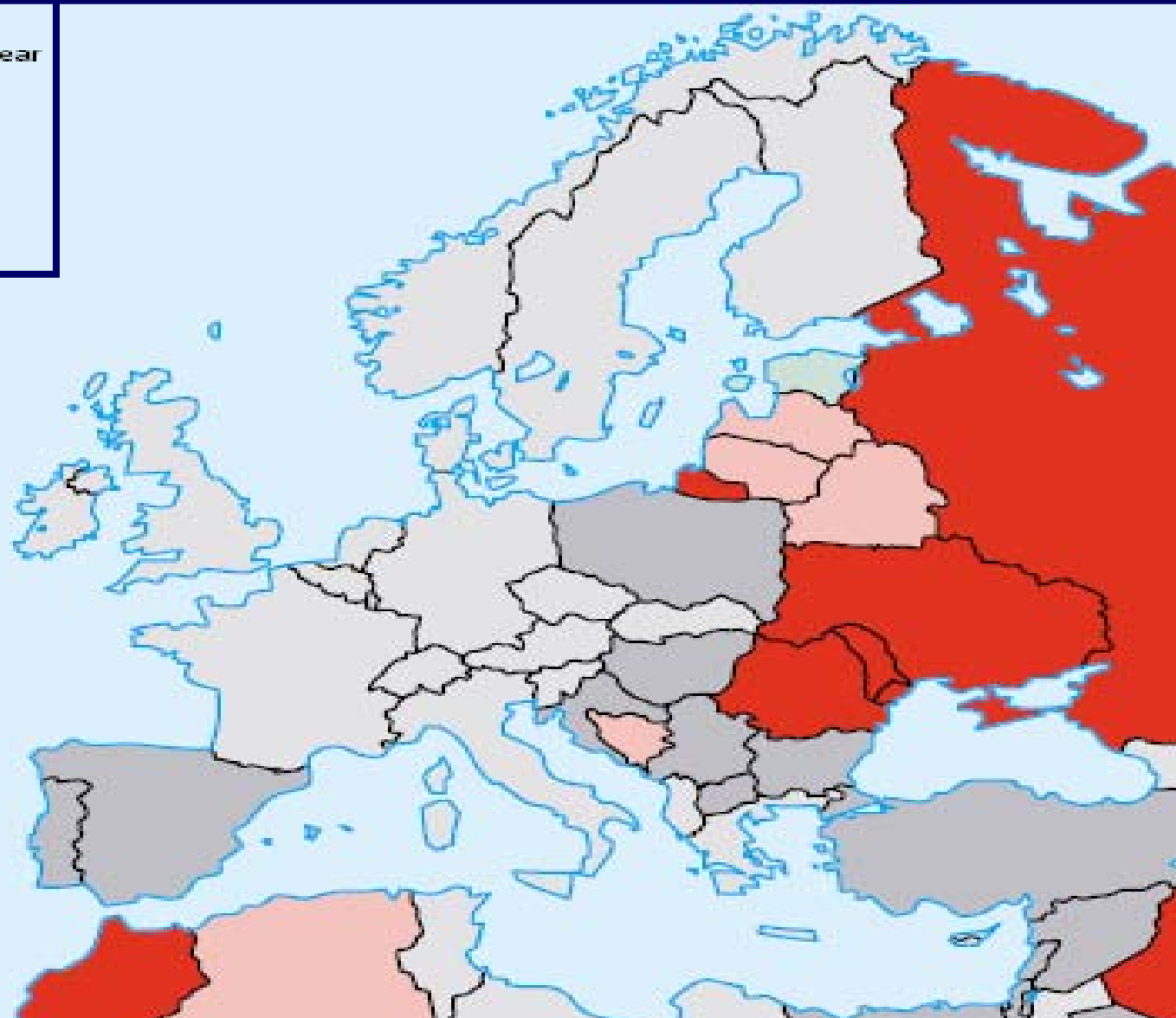
Bambini affetti da Tubercolosi dal 2000 al 2008 (n=96)
DIP. PEDIATRIA FEDERICO II NAPOLI



PREVALENZA DELLA TUBERCOLOSI IN EUROPA

Tuberculosis cases per 100 000 population per year

- 0-25
- 25-50
- 50-100
- 100-300
- ≥300
- No estimate

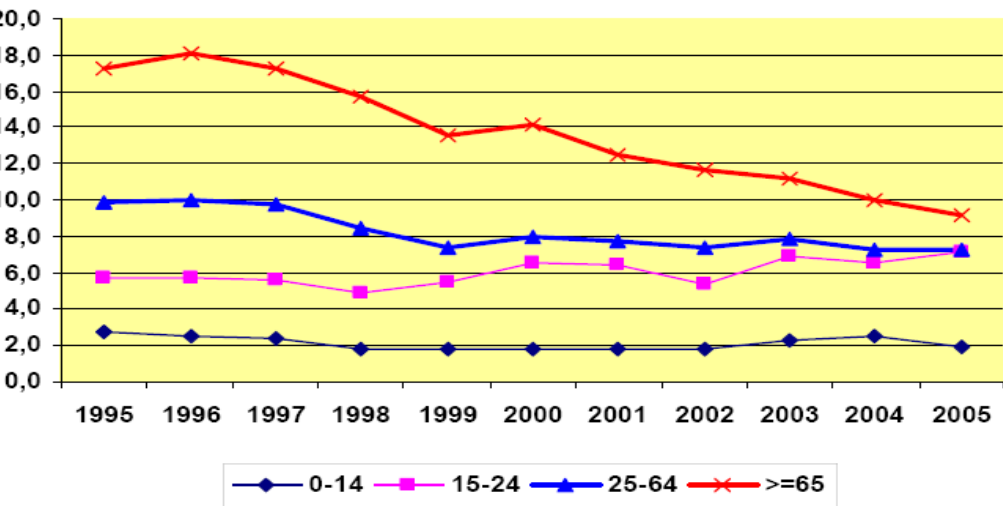


IMPORTANZA DEL PROBLEMA IN ITALIA

| | | |
|--|--|-------|
| Numero totale di casi | 4.387 | |
| Incidenza (100,000 abitanti) | 7,47 | |
| Rapporto M/F | 1,47 | |
| Classe mediana di età (tra gli Italiani) | 55-64 (60) anni | |
| Classe mediana di età (tra i cittadini non italiani) | 25-34 (32) anni | |
| Numero di casi in cittadini non italiani | Bassa endemia (< 10/100.000) | 46,2% |
| Casi con coltura positiva | 1.591 | 36,3% |
| Casi di TBC polmonare | 3.020 | 68,8% |
| <i>di cui sputo positivo</i> | 1.450 | 33,0% |



Incidenza della TBC per classi di età (casi per 100.000 abitanti).
Italia: anni 1995-2005



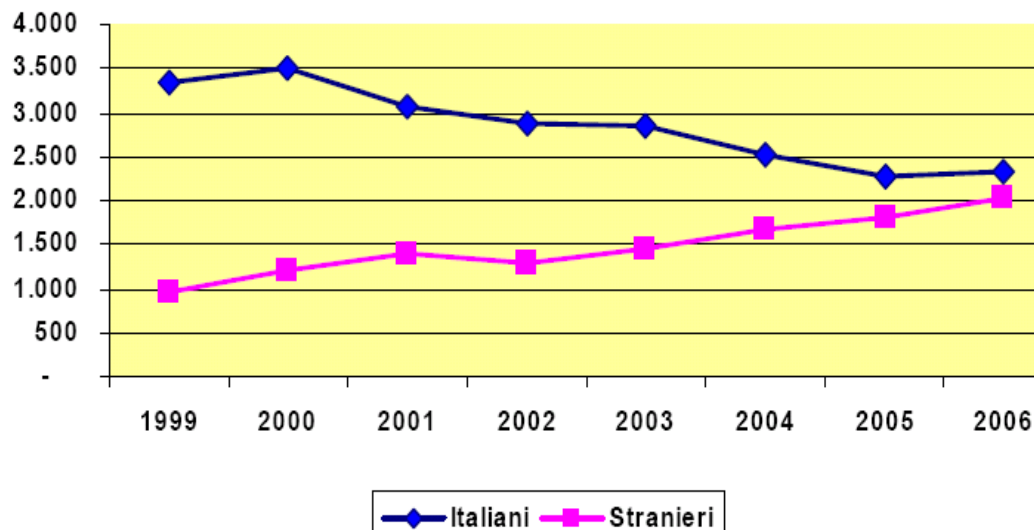
• 0-14 anni : 5% incidenza stabile

• 15-24 anni : 24% incidenza in aumento

• 46,2% dei casi in cittadini non italiani

• Maggiore incidenza tra i 15 e i 44 anni (80%)

Casi di TBC in Italia, per nazionalità. Anni 1999-2006



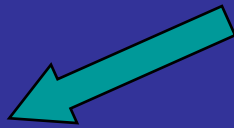
TBC- Infezione primaria



Tubercolo



Complesso Primario
(con diffusione linfonodale)



Guarigione



Aumento della
lesione polmonare



Via ematogena



Diffusione
intrabronchiale



Altri focolai o lesioni miliari
(polmoni, fegato, milza, reni)

TBC IN ETA' PEDIATRICA: CLASSIFICAZIONE CLINICA

INFEZIONE PRIMARIA -> complesso primario asintomatico

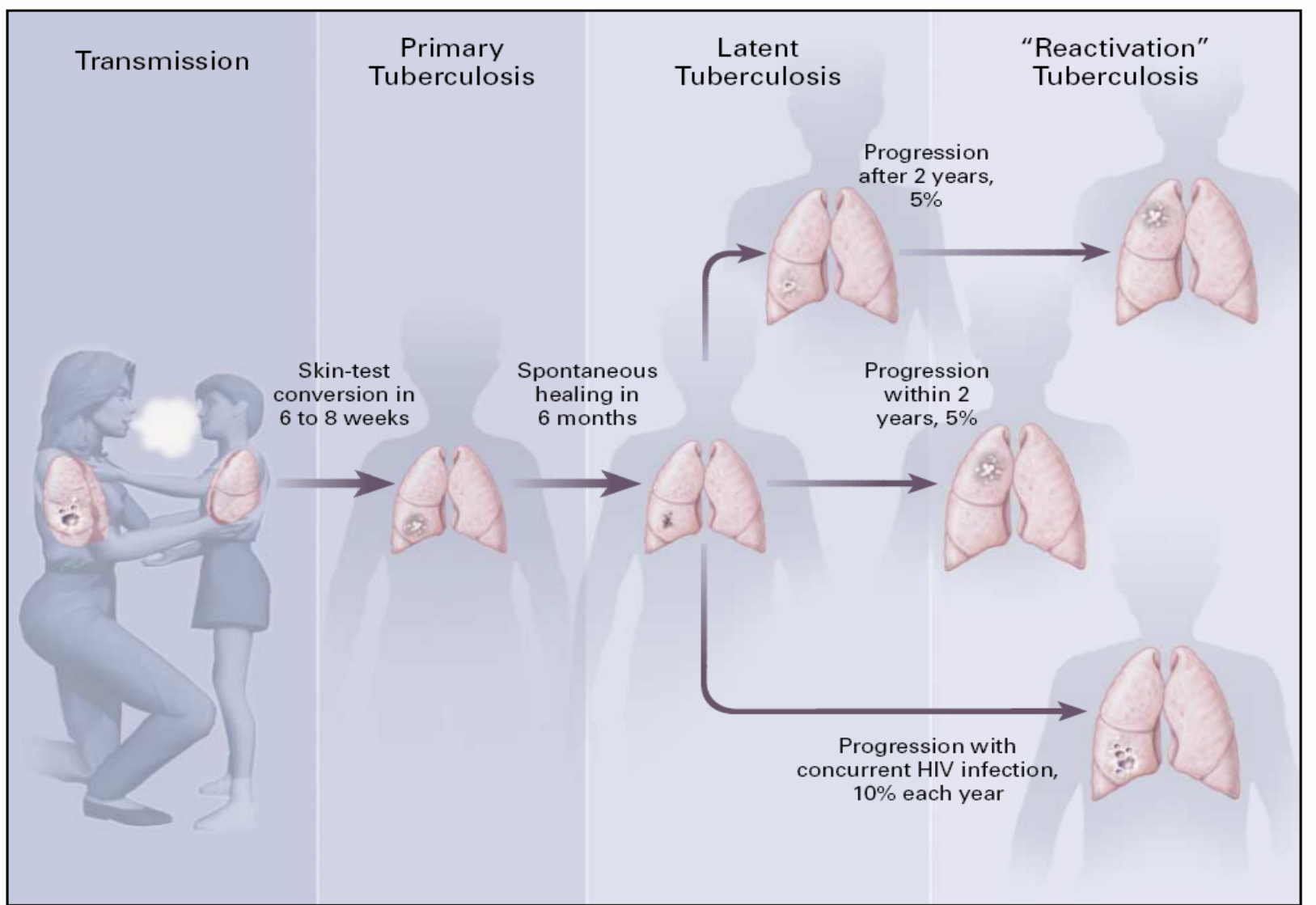
TUBERCOLOSI PRIMARIA E TUBERCOLOSI POST-PRIMARIA

estensione locale del complesso primario, diffusione per via emolinfatica di *M. tuberculosis* con nuove localizzazioni a livello polmonare ed extrapolmonare (soprattutto linfadenopatie)

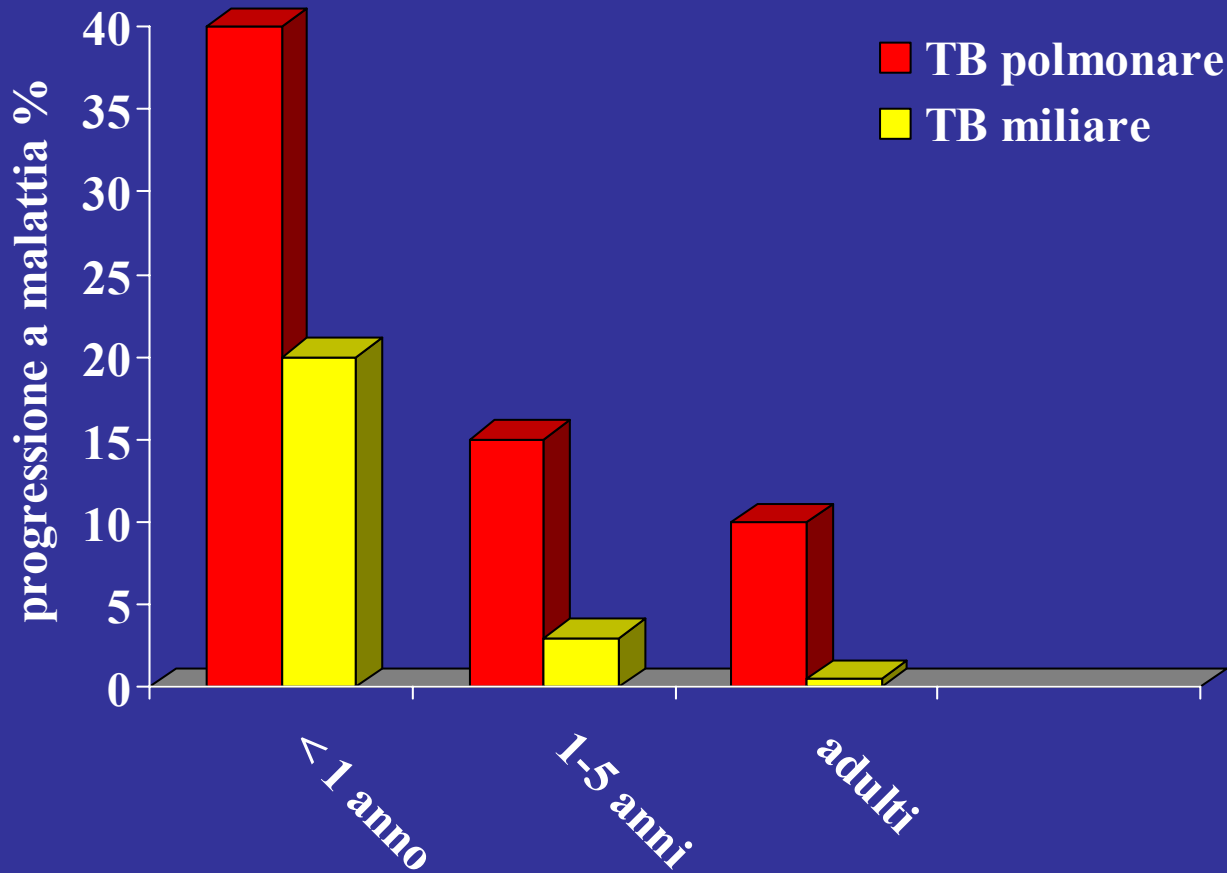
TUBERCOLOSI POST-PRIMARIA TARDIVA

comprende i quadri clinici che si verificano per riaccensione di focolai polmonari ed extrapolmonari originatisi nelle fasi precedenti (reinfezione o riattivazione)

TUBERCULOSSI: PATOGENESI



Rischio di "ammalarsi" di TBC nei bambini rispetto agli adulti in assenza di chemioprolifassi



Classificazione TBC

Esposto:

- Test cutaneo mediante Mantoux negativo
- Esame obiettivo generale negativo
- Radiografia del torace negativa

Infetto:

- Bambino con test alla tubercolina positivo senza segni o sintomi di malattia

Malato:

- Bambino con test alla tubercolina positivo e segni radiologici e/o clinici di malattia

Stadi della tubercolosi

Esposto

- esposto ad adulti con TBC attiva e/o HIV
- proveniente da aree a rischio
- condizioni socio-economiche disagiate
- immunodepressi o HIV+
- malattie croniche

Stadi della tubercolosi

Infetto

L'infezione tubercolare si verifica quando un individuo inala particelle provenienti dalle secrezioni contenenti *M. tuberculosis* ed il microrganismo si stabilisce all'interno delle cellule nel polmone e nel tessuto linfoide associato.

Il bambino presenta:

- Mantoux positiva
- Esame obiettivo negativo
- Radiografia del torace negativa o con reperto positivo per granulomi o calcificazioni del parenchima polmonare e/o ai linfonodi ilari/mediastinici.

Stadi della tubercolosi

Malato

Fino al 40% dei bambini con infezione tubercolare non trattata sviluppa la malattia entro 1-2 anni. Tra i lattanti e i bambini, infatti, la malattia nella maggior parte dei casi complica un'infezione iniziale; l'infezione e la malattia sono poco distinte fra loro poiché le alterazioni radiografiche nella seconda possono essere lievi e i sintomi sono assenti in una percentuale fino al 50% dei casi.

Il bambino presenta:

- Mantoux positiva
- Segni e sintomi di malattia tubercolare
- Radiografia del torace positiva

APPROCCIO BASATO SUI SINTOMI PER LA DIAGNOSI DI TB POLMONARE

Cough >3 wk
Cough >4 wk
Chest pain
Hemoptysis
Respiratory distress
Fever
Night sweats
Fatigue
Weight loss subjective
Weight loss objective
TST positive
Household contact

*Marais et al.
Pediatrics 2006*

- *Tosse persistente > 2 sett.*
- *Perdita di peso oggettiva*
- *Astenia riferita (dall'inizio della tosse)*



| Combined Variables at Presentation ^a | Value | | |
|---|-------------|-------------|------|
| | Sensitivity | Specificity | PPV |
| Low-risk children | | | |
| ≥3 years and HIV uninfected | 82.3 | 90.2 | 82.3 |
| High-risk children | | | |
| <3 years and HIV uninfected | 51.8 | 92.5 | 90.1 |
| HIV infected (irrespective of age) | 56.2 | 61.8 | 61.9 |

TBC DIAGNOSI

Quando sospettare una TBC:

- Motivi clinici
- Mantoux positiva
- Esposizione

TBC DIAGNOSI

- Anamnesi
- Clinica
- Rx/TC torace/Broncoscopia
- Indagini laboratoristiche
 - Mantoux
 - Microscopia (Colorazione Zielh-Nielsen)
 - Coltura per Micobatterio tubercolare su aspirato gastrico e/o faringeo
- PCR
- Test gamma- interferonici

Tuberculin skin test



Standardizzazione del test alla tubercolina

- o Standardizzazione della tubercolina
- o Standardizzazione della somministrazione
- o Standardizzazione della lettura

Tuberculin skin test



Interpretazione stocastica della Mantoux

| > 5 mm | > 10 mm | > 15 mm |
|--|---|----------------------------------|
| <p>contatti con casi infettivi</p> <p>radiografia del torace anormale</p> <p>infezione da HIV e altre fonti di immunodepressione</p> | <p>soggetti provenienti da altri paesi con prevalenza elevata dell'infezione</p> <p>soggetti ospitati in istituti</p> <p>bambini a stretto contatto con adulti ad alto rischio</p> <p>lattanti</p> <p>Condizioni economiche disagiate</p> | <p>nessun fattore di rischio</p> |

Tuberculin skin test

FALSI POSITIVI

Infezione da *Mycobacterium* non tubercolare

Table 1 Child-related factors capable of causing false-negative tuberculin skin tests.

Viral infections (measles, mumps, chicken pox, HIV)
Severe bacterial infection (typhoid fever, brucellosis, typhus, leprosy, pertussis, overwhelming tuberculosis)
Live virus vaccination
Chronic renal failure
Severe protein depletion
Immunosuppression (medications, malignancy, HIV infection)
Sarcoidosis
Neonatal period

FALSI NEGATIVI

Errori tecnici

Infezioni virali

Severe infezioni batteriche

Vaccinazioni con virus vivi

Immunodepressione

Malattie sistemiche

Età (neonato/anziani)

REPERTI RADIOGRAFICI IN BAMBINI AFFETTI DA TBC POLMONARE

LINFOADENOPATIA MEDIASTINICA

1. LINFOADENOPATIA MEDIASTINICA SOLO

2. LINFOADENOPATIA MEDIASTINICA E PARATRACHEALE

3. LINFOADENOPATIA PARATRACHEALE

COMPRESSIONE DELLE VIE AEREE

4. LINFOADENOPATIA PARATRACHEALE

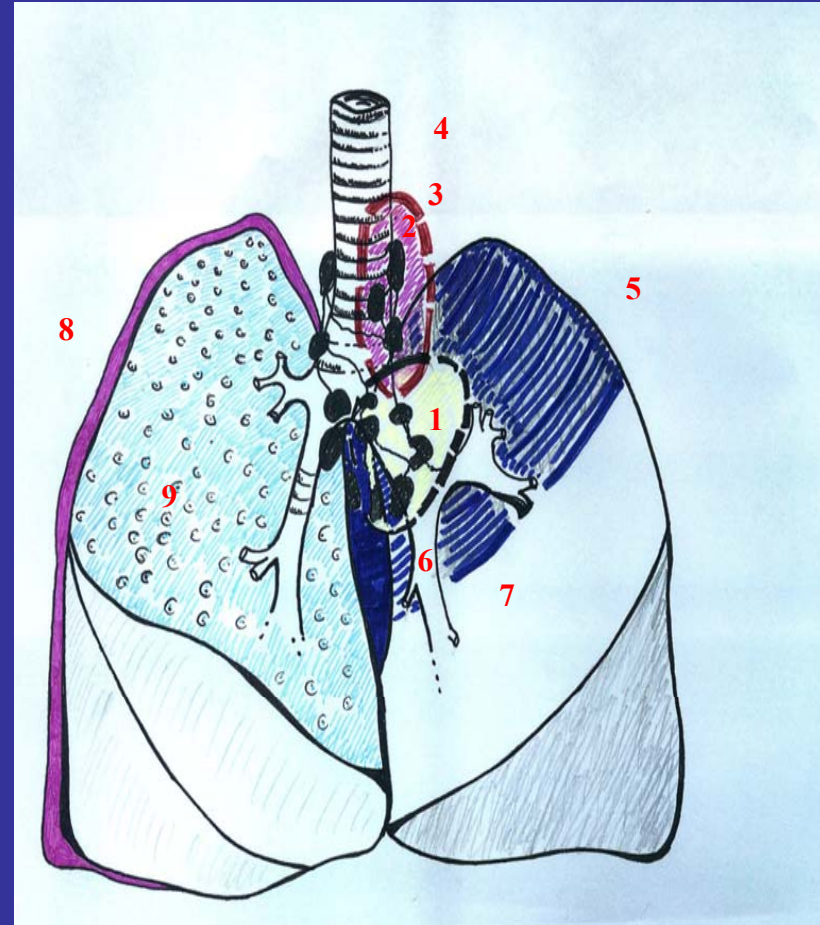
5. OPACIZZAZIONE LOBARE

6. OPACIZZAZIONE PERILARE

7. COLLASSO LOBARE/SEGMENTARIO

8. PLEURITE

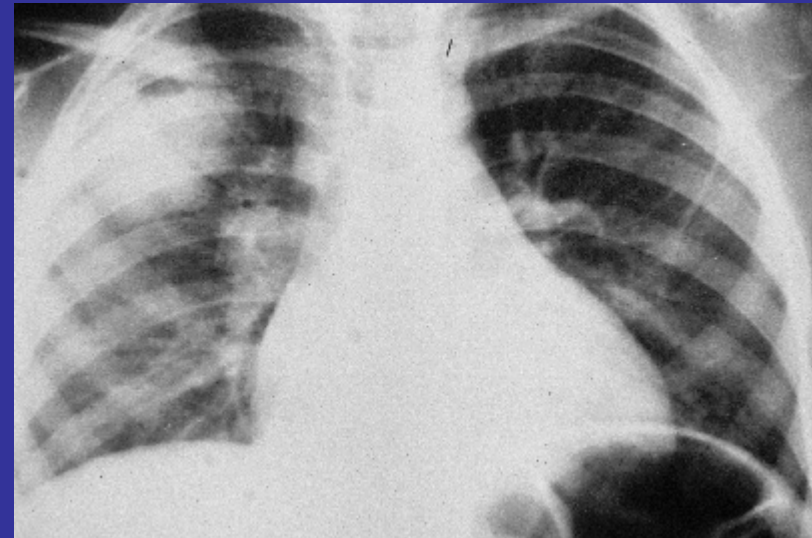
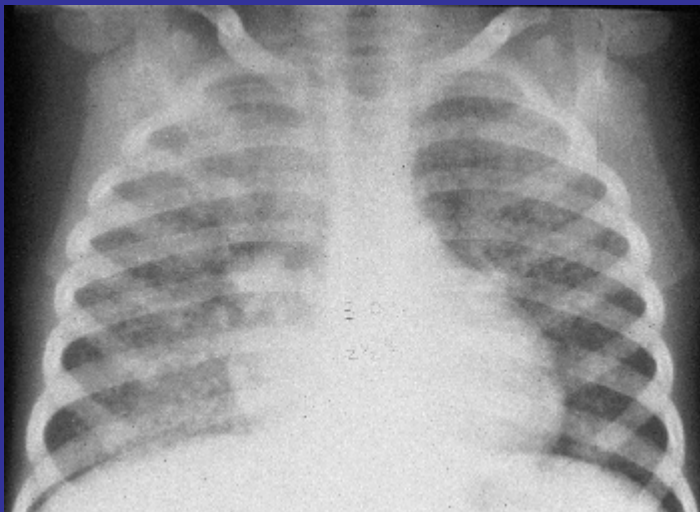
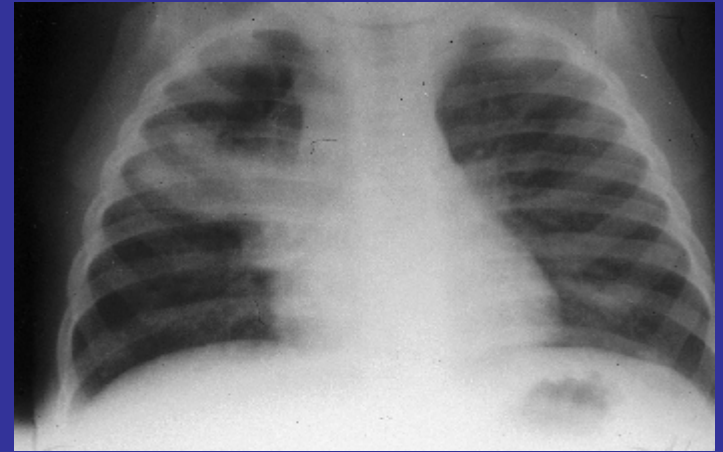
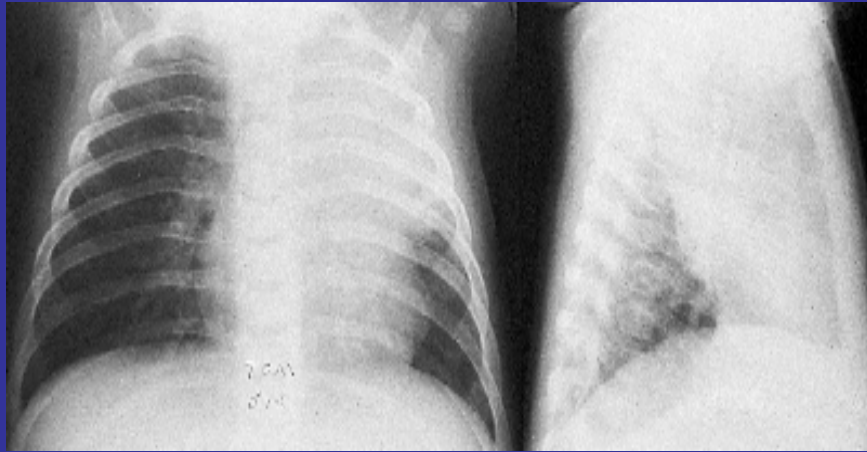
9. OPACIZZAZIONE MILIARE



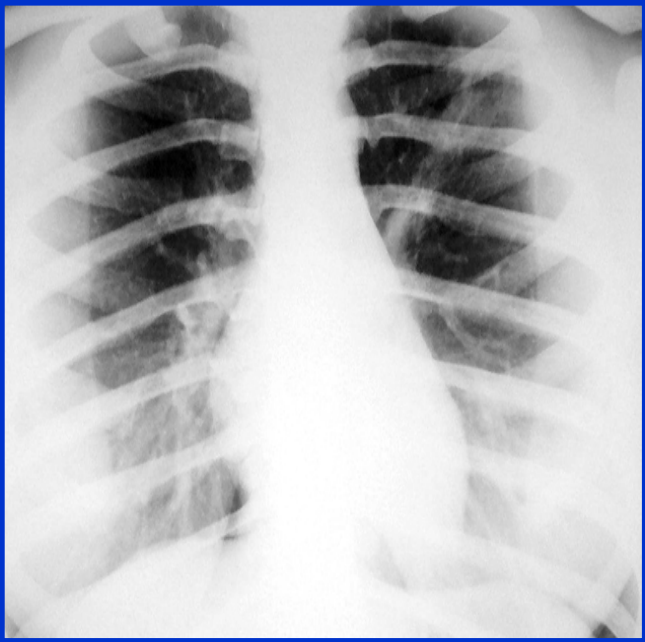
Referti polmonari radiografici in 109 bambini con tubercolosi confermata

| Reperto radiografico | N° (%) |
|---|-------------------|
| Linfoadenopatia ilare | 29 (27) |
| Linfoadenopatia ilare e paratracheale | 25 (22) |
| Compressione tracheale/ bronchiale | 16 (16) |
| Air-trapping | 12 (11) |
| Opacizzazione lobare | 61 (56) |
| Opacizzazione preilare/ broncopolmonite | 13 (12) / 23 (21) |
| Collasso lobare e segmentario | 18 (17) |
| Pleurite | 12 (11) |
| Opacizzazione miliare | 7 (6) |
| Cavità / calcificazioni | 6 (6) / 3 (3) |
| Rx normale | 11 (10) |

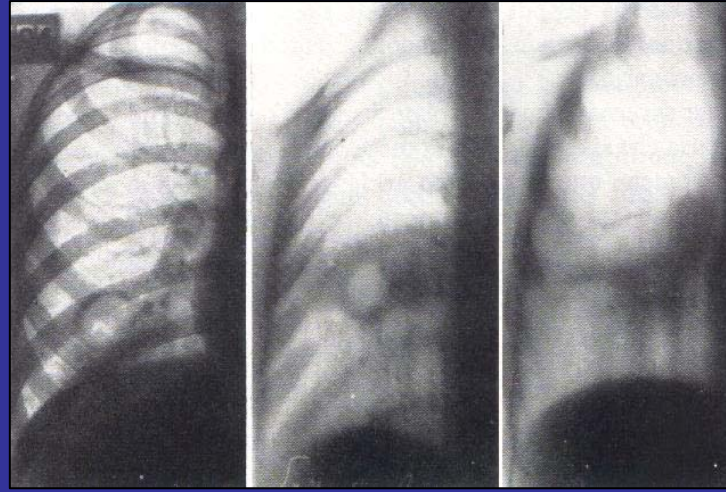
ASPETTI RADIOLOGICI DELLA TUBERCOLOSI IN ETA' PEDIATRICA



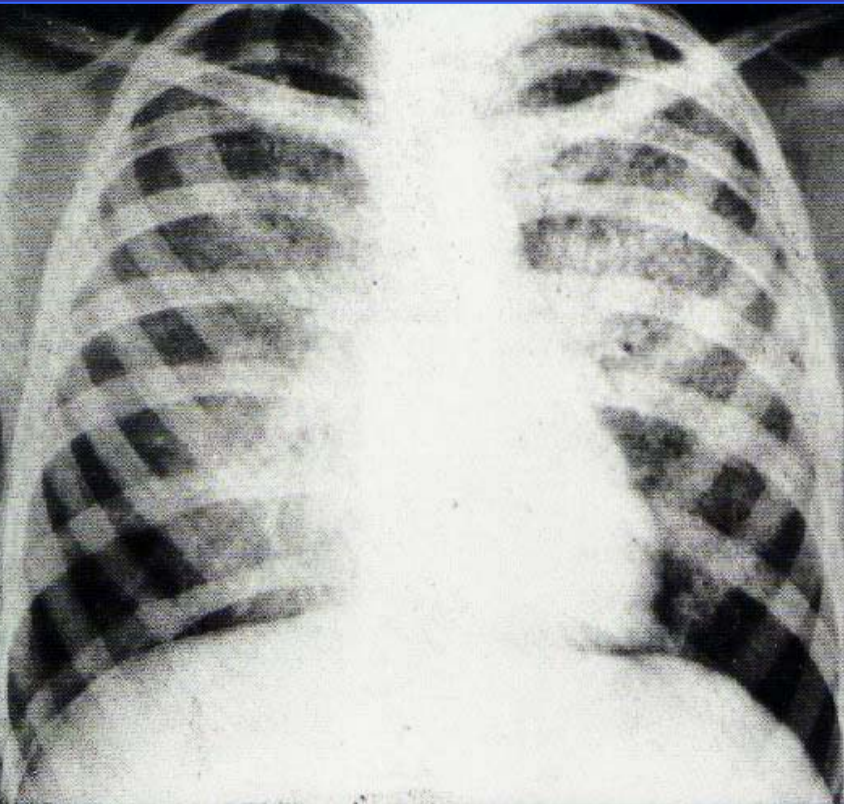
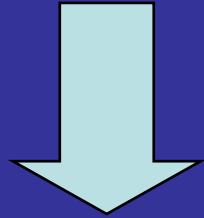
A. BARBARA ANNI 15. COMPLESSO PRIMARIO



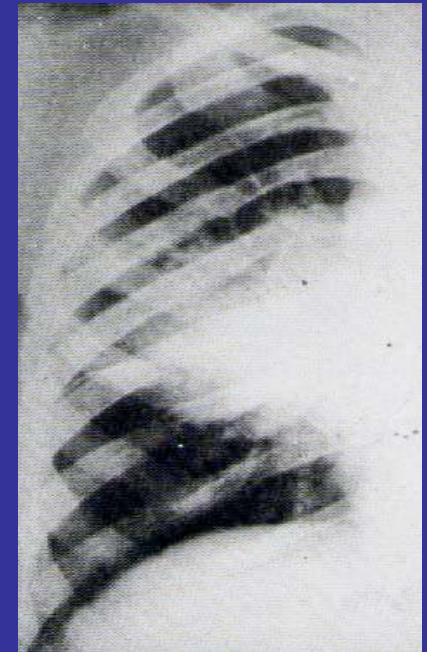
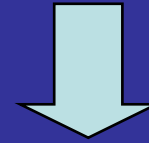
Cavitazione - Caverna



TBC MILIARE



ADENOPATIA ALLERGIZZATA
INFILTRAZIONE ILO-POLMONARE



DIAGNOSI DI TBC

Diagnosi di certezza con isolamento del Bacillo di Koch:

- Escreato
- Aspirato secrezioni polmonari
- Succo gastrico

Diagnosi senza isolamento del Bacillo di Koch:

- Anamnesi
- Esame obiettivo
- Esame radiologico
- Test tubercolinico
- Broncoscopia

CONFERMA MICROBIOLOGICA

Necessaria

Non necessaria

Fonte di infezione non nota

Mantoux positiva

Microrganismo resistente

Clinica positiva

Fonti plurime

Radiografia positiva

TBC extrapolmonare

Fonte conosciuta

Immunodepressione/HIV

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS HOMINIS

RICERCA NEI MATERIALI PATOLOGICI

1. ESAME MICROSCOPICO DIRETTO

1. SPUTO
2. BRONCOASPIRATO
3. SUCCO GASTRICO
4. URINE
5. FECI
6. LIQUIDO PLEURICO
7. LIQUOR
8. PUS

2. ESAME COLTURALE

ASPIRATO GASTRICO

Rappresenta il materiale biologico più appropriato per la diagnosi di TBC nel bambino che non espettora

Va effettuato previo posizionamento di sondino nasogastrico:

- al mattino
- a digiuno
- prima che il paziente si alzi dal letto

PCR

utile per la conferma della diagnosi di sospetti TBC nel bambino immunocompetente

conferma diagnostica nei casi sospetti di TBC in attesa dei risultati della coltura

consente di prendere rapidamente una decisione terapeutica

indispensabile per la dx di TBC nel bm immunodeficiente (Mantoux neg)

Table 3. Comparison of PCR and conventional methods with culture positivity


| Method | Culture | | Sensitivity (%) | Specificity (%) | Positive predictive value (%) |
|------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------|
| | Positive (<i>n</i> = 22)* | Negative (<i>n</i> = 78)* | | | |
| PCR+ (<i>n</i> = 22) | 17 | 5 | 89.5 | 86.1 | 77.3 |
| ZN+ (<i>n</i> = 47) | 17 | 30 | 77.3 | 61.5 | 56.7 |
| FS+ (<i>n</i> = 74) | 18 | 56 | 81.8 | 28.2 | 24.3 |
| KAF+ (<i>n</i> = 42)† | 16 | 26 | 72.7 | 66.7 | 38.1 |

Vantaggi

MICROSCOPIA

- Diagnosi precoce(24h)
- Poco costosa
- Misura di infettività
($5 \times 10^{3-4}$ AFB/ml)

COLTURA

-  Gold standard diagnosi
- Sensibilità (10-100 AFB/ml)
- Sensibilità 80-85%
- Specificità 98%

PCR

- Alta sensibilità
 - 80-100% per smear pos.
 - 50-80% per smear neg.
- Diagnosi precoce (ore)
- Inizio terapia
- Elevata specificità
- Consente diagnosi difficoltosa
(neonato, HIV)

Svantaggi

MICROSCOPIA

- Bassa sensibilità (50-80%)
- No distinzione tra Myc. tuberculosis e non

COLTURA

- Diagnosi tardiva
 - 3-8 wks per coltura standard
 - 1-3 wks per radiometriche
- Personale esperto/Costoso

PCR

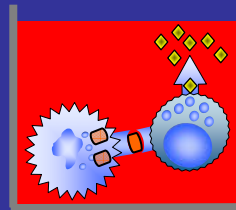
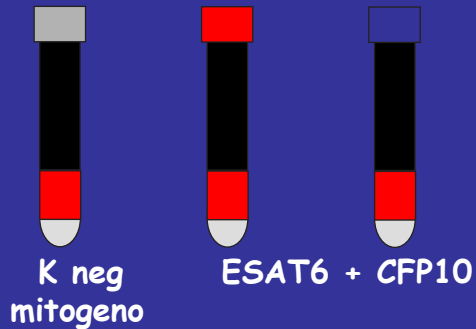
- Costi elevati
- Rischio di contaminazione(FP)
- Variabilità della metodica (diversi kits)
- Non distingue la malattia attiva dall' infezione latente

Test gamma interferonici

- I linfociti T dei soggetti con infezione tubercolare producono interferone- γ se vengono in contatto con uno o più antigeni del *M. tuberculosis*
 - PPD (*purified proteic derivative*)
 - ESAT-6 (*early secretory antigenic target 6*)
 - CFP-10 (*culture filtrate protein 10*)
- ESAT-6 e CFP-10 sono codificati in una regione genica (RD1) che manca nel BCG e in quasi tutti i MNT

Quantiferon-TB Gold in Tube (ELISA)

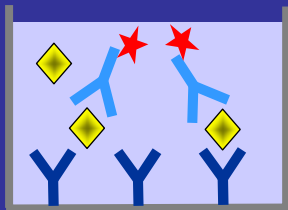
Raccolta del sangue in provette eparinate



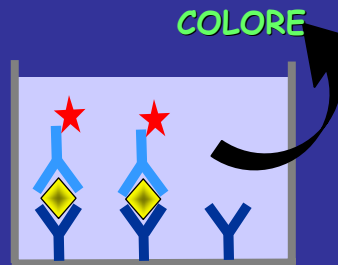
Incubazione per 16-24h a 37°C



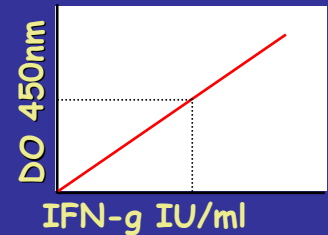
centrifugazione



Recupero del plasma e dosaggio dell'IFN- γ ('sandwich' ELISA, incubazione 120 min)

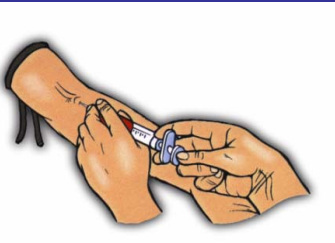


Lavaggio, aggiunta di substrato e lettura



Misura della DO e dosaggio dell'IFN- γ contro una curva di taratura

T-SPOT-TB (ELISpot)

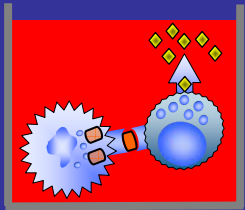
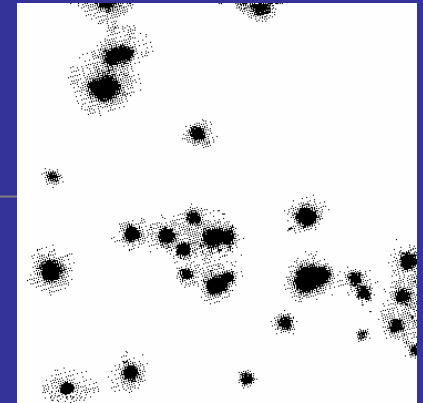
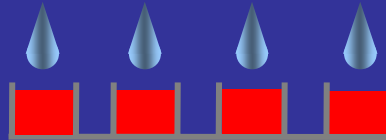


Sangue eparinato



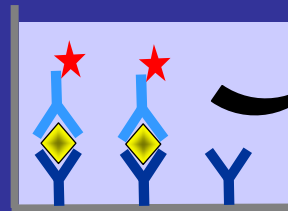
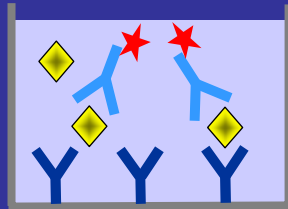
Separazione e conteggio Trasferimento dei linfociti (250.000 cell.)
dei leucociti mononucleati in pozzetti coated con Ab anti-IFN- γ
e aggiunta dell'antigene

K - ESAT-6FP-1Mitogeno



Incubazione overnight a 37°C

Lavaggio e dosaggio
dell'IFN- γ
(*'sandwich'* ELISA,
incubazione 120 min)



COLORE

Conteggio degli spot,
al microscopio o con
lettore automatico

Vantaggi "rivendicati" dei metodi basati su IFN- γ

- Test in vitro
- Nessun effetto *booster*
- Specificità elevata
- Non influenzati dalla vaccinazione con BCG
- Praticità: occorre solo un prelievo di sangue e non è richiesta la collaborazione del paziente
- Interpretazione oggettiva

Concordanza dei due test γ -interferonici in bambini immunodepressi (n 74)

Dip. di Pediatria Federico II di Napoli

QFT-GIT

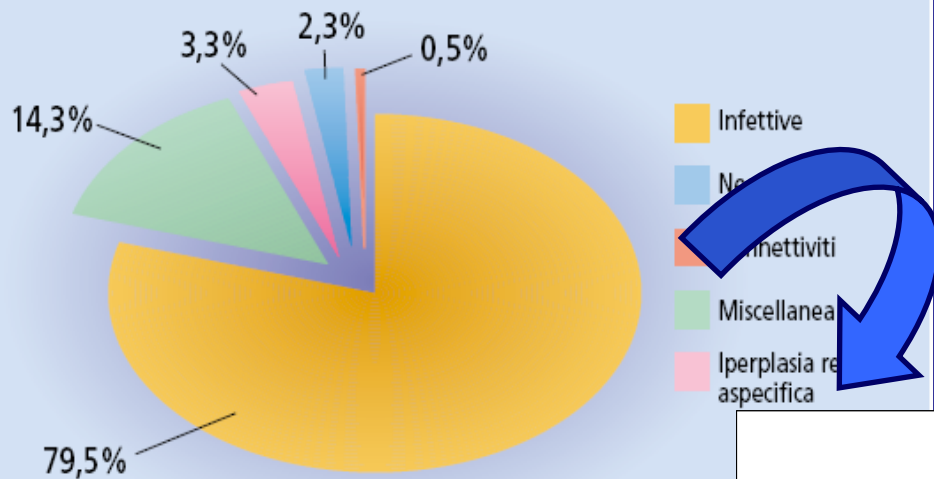
| TS-TB | Positivi | Negativi | Indeterminati |
|---------------|----------|------------|---------------|
| Positivi | 0 | 5 (6.8%) | 2 (2.7%) |
| Negativi | 1 (1.3%) | 44 (59.4%) | 11 (14.9%) |
| Indeterminati | 0 | 8 (10.8%) | 2 (2.7%) |

LINFOADENOPATIA TUBERCOLARE

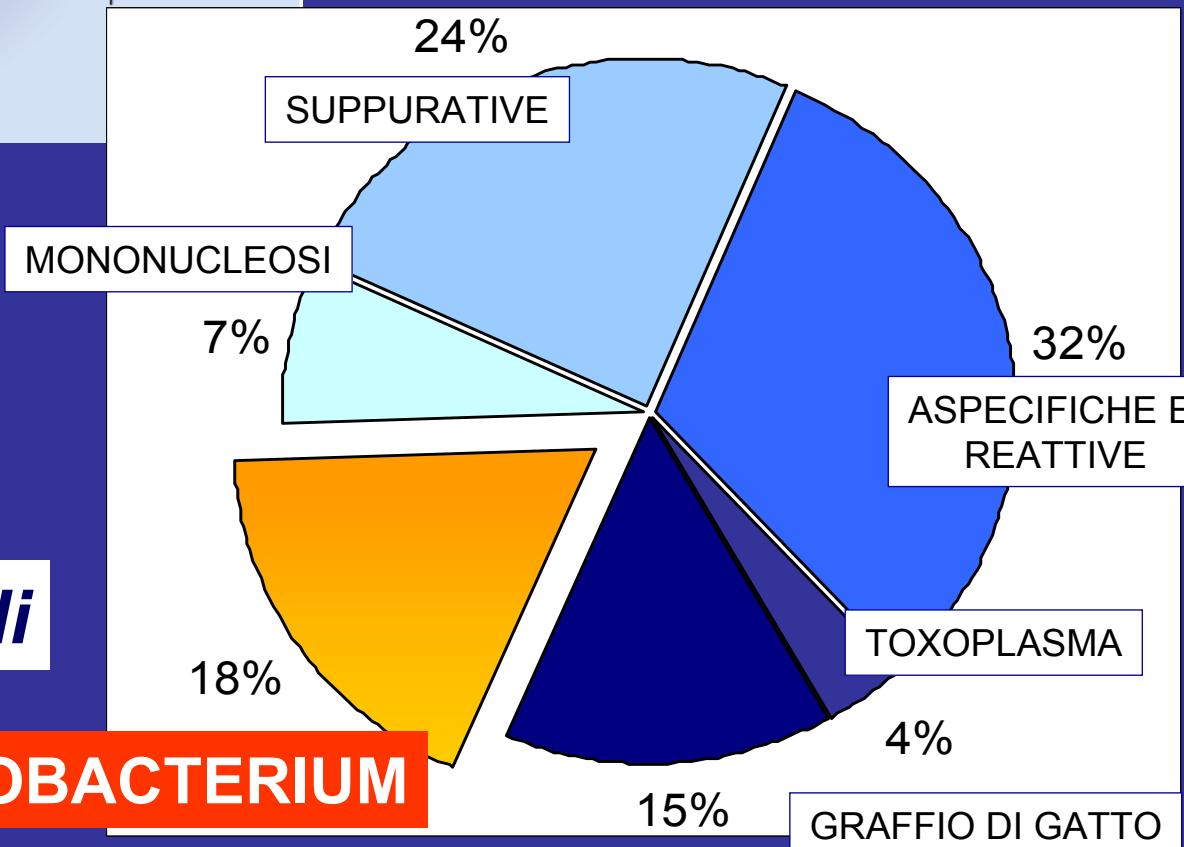


Consistenza duro-elastica
Localizzazione cervicale
Esordio sub-acuto
Cute aderente ed arrossata

CAUSE DI LINFOADENOPATIA



Dati di Vecchi Burnelli Panizon citati da Burgio in Area pediatrica 2001



89% cervicali

MYCOBACTERIUM

MANTOUX

MTB

M. tuberculosis (PPD-T)
M. bovis (+frequente)
M. africanum

*Linfoadenopatie micobatteriche
laterocervicali*

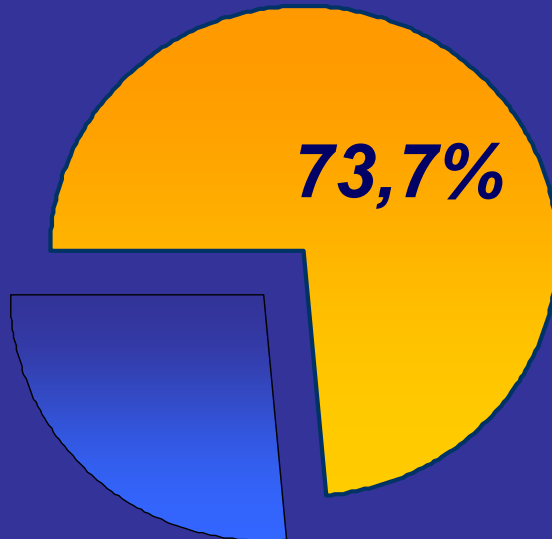
**MANTOUX
DIFFERENZIALE**

MNTB

M. avium intracellulare (PPD-B)
M. kansasii (PPD-Y)
M. scrofulaceum (PPD-G)
M. chelonae

>10mm

40%



Positività alla Mantoux in bambini con Linfoadenopatie laterocervicali da MOTT (n=174)

| Best result value | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> skin test | <i>Mycobacterium avium</i> skin test | <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> skin test | <i>Mycobacterium kansasii</i> skin test |
|---------------------------------------|---|--------------------------------------|---|---|
| Total NTM (n = 112) | | | | |
| ≥ 5 mm | 78 (69.6) | 105 (93.8) | 91 (83.3) | 51 (45.5) |
| ≥ 10 mm | 61 (54.5) | 105 (93.8) | 89 (79.5) | 30 (26.8) |
| ≥ 15 mm | 15 (13.4) | 85 (75.9) | 63 (56.3) | 5 (4.5) |
| <i>M. avium</i> (n = 83) | | | | |
| ≥ 5 mm | 58 (69.9) | 80 (96.4) | 67 (80.7) | 38 (45.8) |
| ≥ 10 mm | 47 (56.6) | 80 (96.4) | 66 (79.5) | 22 (26.5) |
| ≥ 15 mm | 11 (13.3) | 66 (79.5) | 46 (55.4) | 3 (3.6) |
| <i>M. haemophilum</i> (n = 21) | | | | |
| ≥ 5 mm | 15 (71.4) | 19 (90.5) | 18 (85.7) | 11 (52.4) |
| ≥ 10 mm | 12 (57.1) | 19 (90.5) | 18 (85.7) | 8 (38.1) |
| ≥ 15 mm | 3 (14.3) | 16 (76.2) | 15 (71.4) | 2 (9.5) |
| Other NTM (n = 8) | | | | |
| ≥ 5 mm | 5 (62.5) | 6 (75) | 6 (75) | 2 (25) |
| ≥ 10 mm | 2 (25) | 6 (75) | 5 (62.5) | 0 (0) |
| ≥ 15 mm | 1 (12.5) | 3 (37.5) | 2 (25) | 0 (0) |

MTB

ASPIRATO

Scarsa collaborazione

Bambini piccoli

Sito inaccessibile

ASPIRATO NON PRATICABILE

Ziehl Neelsen

Citologia

Coltura

Bacilli alcool-acido resistenti (MTB e MNTB)

Cellule Epitelioidi
Cellule multinucleate
Necrosi caseosa
Cellule necrotiche
Granuloma infiammatorio

Bassa sensibilità (20-40%)

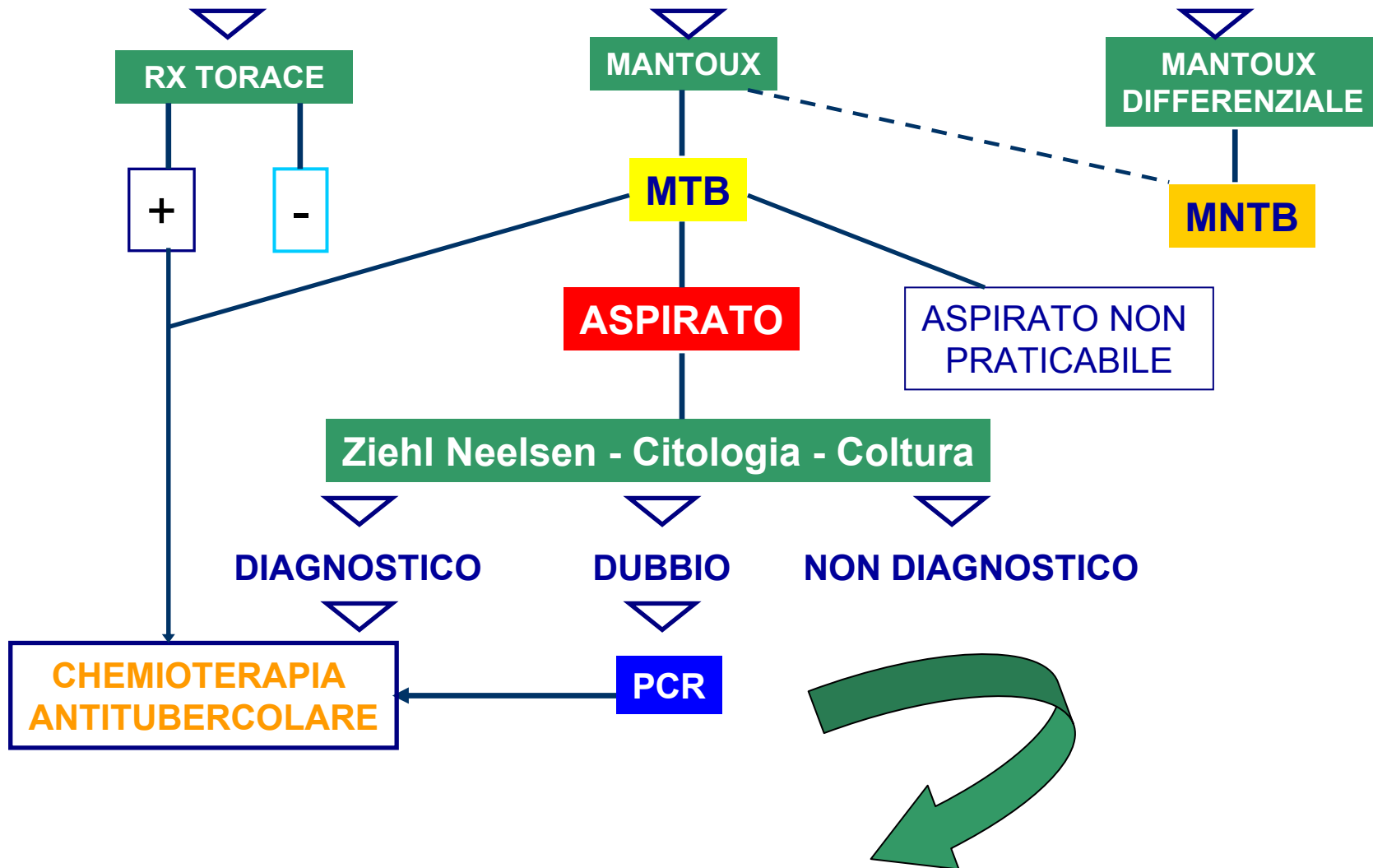
SENSIBILITA' 88%

SPECIFICITA' 96%

se Mantoux +

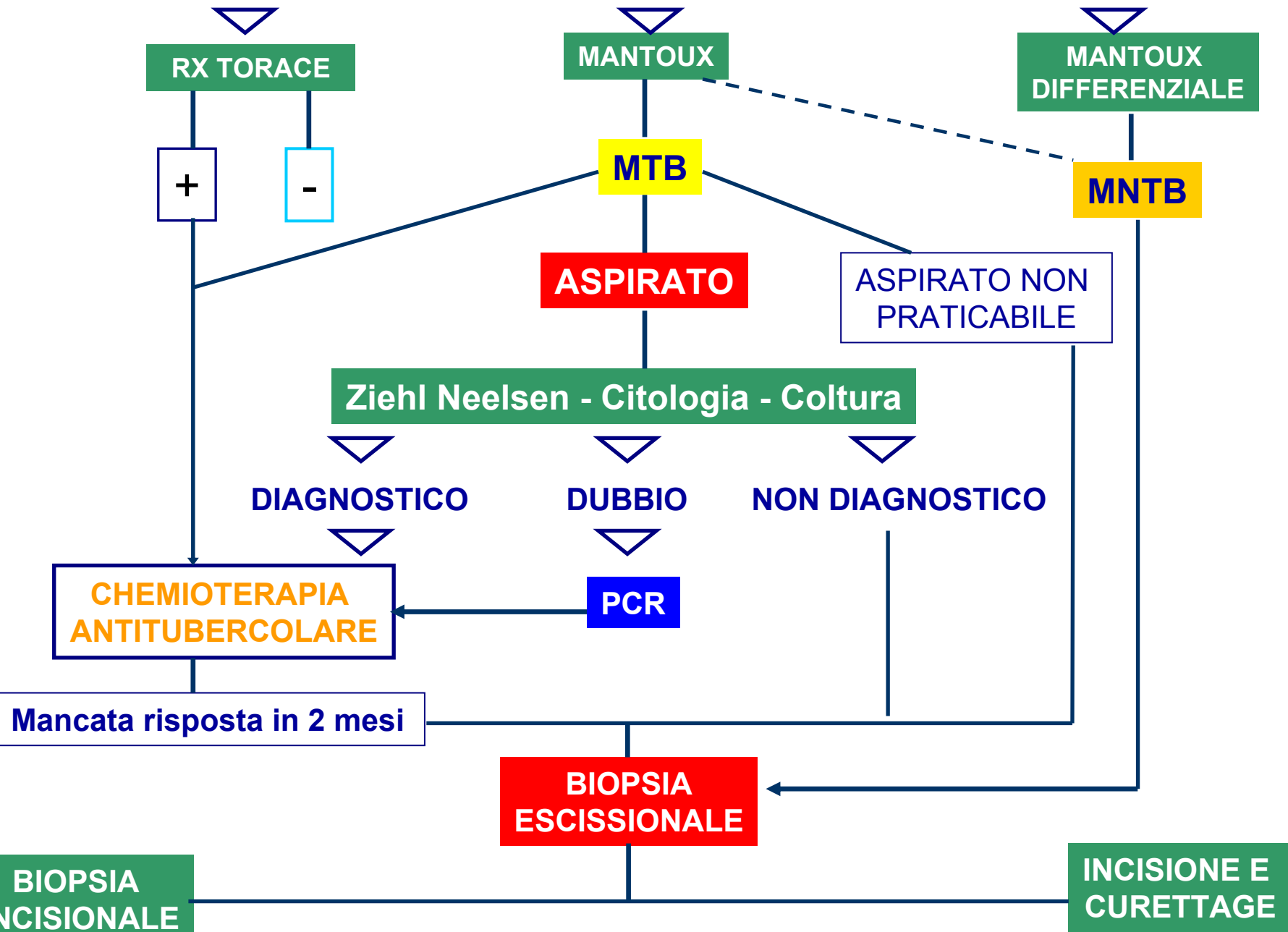
90%

LINFOADENOPATIA LATEROCERVICALE PERSISTENTE



Aspirato + PCR = **SPECIFICITA' 100%**

LINFOADENOPATIA LATEROCERVICALE PERSISTENTE



Siena, 8 Febbraio 2007

Spett.le
Azienda Universitaria Policlinico
Federico II°
Servizio di Farmacia

NAPOLI NA

Fax: 081/7463452

Oggetto: Biocine Test PPD Liofilo in fiale da 5 e 10 UI - Indisponibilità -
Rif. cortese Vostra richiesta telefonica del 7.02.2007.

La Novartis Vaccines and Diagnostics S.r.l., con Sede Legale in Siena, Via Fiorentina
N° 1, facendo riferimento ai colloqui intercorsi con Codesta Spettabile
Amministrazione si premura precisarVi che il preparato in oggetto **é indisponibile.**

Vogliate gradire i ns. migliori saluti.

...o Alfredo,

rispondo anche a nome del dr. Greco in merito alla tua mail.

Abbiamo avuto di recente un incontro con la Novartis all'AIFA, avendo ricevuto, da dicembre 2006 segnalazioni di carenze del prodotto dalle ASL e assicurazioni dalla Ditta che, dopo un rallentamento della produzione, si sarebbe **riavviata la normale distribuzione a febbraio 2007**.

Al contrario, a febbraio ci sono giunte informazioni dalle ASL che la Novartis intendeva **risumere la produzione del prodotto**.

Chiamata a risponderne all'AIFA, la Novartis si è impegnata a **riprendere la produzione a maggio**.

Nel frattempo non abbiamo altra alternativa che suggerire di richiedere l'importazione diretta del prodotto all'AIFA, che ha la competenza per il rilascio delle autorizzazioni.

Nella prossima settimana, inoltre, partirà una nota informativa, in tal senso, dal Ministero per gli assessorati.

... presto risentirci
... Maria Grazia

Dr.ssa Maria Grazia Pompa
Direttore Uff. V - Malattie Infettive e Profilassi Internazionale
U. G. Prevenzione Sanitaria
Ministero della Salute

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS HOMINIS

RICERCA NEI MATERIALI PATOLOGICI

1. ESAME MICROSCOPICO DIRETTO

1. SPUTO
2. BRONCOASPIRATO
3. SUCCO GASTRICO
4. URINE
5. FECI
6. LIQUIDO PLEURICO
7. LIQUOR
8. PUS

2. ESAME COLTURALE

MANTOUX

+

MANTOUX DIFFERENZIALE

Nel caso entrambe le intradermoreazioni siano positive viene considerato significativo un indurimento cutaneo con diametro superiore di almeno 3 mm rispetto all'altro.

Saggese et al. Am J Otorinol 2003

| Clinical characteristics | Atypical mycobacteria | Mycobacterium tuberculosis |
|-------------------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| Age | 1-4 y | All ages (most >5 y) |
| Race | Predominantly white | Predominantly black or Hispanic |
| Exposure to tuberculosis | Absent | Present |
| Bilateral involvement | Rare | Not uncommon |
| Chest radiograph | Normal (97%) | Abnormal (20% to 70%) |
| Residence | Rural | Urban |
| PPD >15 mm of induration* | Uncommon | Usual |
| Response to antimycobacterial drugs | No | Yes |

Data from Darville & Jacobs (2002).
*PPD refers to 5 tuberculin units (5 TU) intracutaneous skin test.

MNTB



**BIOPSIA
ESCISSIONALE**

Non risolutiva



*Antibioticoterapia con
CLARITROMICINA*



Intradermoreazione alla Mantoux

- Fino a qualche anno fa: unico test a nostra disposizione per diagnosticare l'infezione TBC in età pediatrica
- Viene effettuata iniettando per via intradermica sulla faccia volare dell'avambraccio di 0.1 ml (5 unità)
- PPD
- Viene letta tra le 48 e le 72 ore misurando il diametro trasversale del nodulo eventualmente formatosi

Indicazioni all'esecuzione immediata della Mantoux

- Contatti con persone con infezione tubercolare sospetta o certa
- Bambini con segni radiografici e/o clinici suggestivi di TBC
- Bambini immigrati da paesi endemici
- Bambini con storia di viaggi in paesi endemici e/o contatti con persone provenienti da suddetti paesi

Risultati della PCR in bambini con diagnosi di TBC dal 1998 al 2008.

Dip. Di Pediatria "FedericoII" di Napoli

Screenati 78 bambini con TBC, di cui 61 (78%) con PCR positiva:

- 42 aspirato gastrico
- 4 biopsie linfonodali
- 6 espettorati
- 4 aspirati faringei profondi
- 2 BAL
- 3 altri

Sensibilita' della Mantoux Differenziale rispetto alla coltura

TABLE 3. Differential Mantoux Test (n = 45)

| | | |
|---------------------------------|----|------------------------|
| M. Avium-Intracellulare complex | 25 | |
| M. Kansasii | 11 | |
| M. Scrofulaceum | 4 | |
| M. Chelonei | 2 | |
| Total | 42 | (93%) positive results |
| Cultural examination (n = 45) | | |
| M. Avium-Intracellulare complex | 12 | |
| M. Chelonei | 1 | |
| Total | 13 | (29%) positive results |

LINFOADENOPATIA LATEROCERVICALE PERSISTENTE

